

Université de Montréal

**ÉVALUATION DES ANTI-INFLAMMATOIRES STÉROÏDIENS POUR LE
TRAITEMENT DE L'HÉMORRAGIE INTRACÉRÉBRALE UTILISANT
UN MODÈLE D'INJECTION STÉRÉOTAXIQUE DE COLLAGÉNASE
CHEZ LE RAT**

par
Pablo Lema

11601387

Département de biomédecine vétérinaire
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences vétérinaires
option biomédecine

Août 2004

© Pablo Lema, 2004



SF

607

U54

2005

V.012

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

**ÉVALUATION DES ANTI-INFLAMMATOIRES STÉROÏDIENS POUR LE
TRAITEMENT DE L'HÉMORRAGIE INTRACÉRÉBRALE UTILISANT
UN MODÈLE D'INJECTION STÉRÉOTAXIQUE DE COLLAGÉNASE
CHEZ LE RAT**

Présenté par
Pablo Lema

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

André Dallaire	Président-rapporteur
Pascal Vachon	Directeur de recherche
Christiane Girard	Codirectrice
Marilyn Dunn	Membre du jury

RÉSUMÉ ET MOTS-CLEFS

Malgré l'utilisation extensive des glucocorticoïdes pour le traitement du dommage cérébral aigu, leur efficacité pour le traitement de l'hémorragie intracérébrale est toujours controversée. Nous avons évalué la dexaméthasone (DM) (1 mg/kg) et la méthylprednisolone (MP) (à 10, 35 et 100 mg/kg) pour le traitement de cette affection en utilisant un modèle d'hématome cérébral induit par injection sous-corticale de collagénase. Les groupes traitement ont reçu la DM ou la MP par la voie intrapéritonéale 1 et 24 heures après l'induction de l'hématome. Pour fin de comparaison, des groupes contrôle positif (hématome sans traitement) et négatif (injection intracérébrale de salin sans traitement) ont été utilisés. La performance neurologique des animaux a été testée avant (24 h) et après (24 et 48 h) l'injection intracérébrale. Ensuite, ils ont été anesthésiés et les cerveaux prélevés pour déterminer leur contenu en eau ainsi que pour faire l'évaluation microscopique et immunocytochimique pour la GFAP (protéine glio-fibrillaire acide). La performance neurologique s'est améliorée dans les groupes traités avec dexaméthasone et méthylprednisolone (35 et 100 mg/kg). Le volume de l'hématome a été significativement plus petit et nous avons également observé moins de neutrophiles dans la lésion de tous les groupes traités aux corticoïdes. Le nombre de neurones nécrotiques dans le cortex a été moins important dans les groupes traités avec DM et MP (100 mg/kg) et ces animaux ont montré moins de changements vasculaires inflammatoires et dégénératifs. La dexaméthasone s'est avérée efficace pour réduire la réaction astrocytaire dans la région de la pénombre de la lésion. En conclusion la dexaméthasone et la méthylprednisolone, utilisées promptement à la suite d'une hémorragie intracérébrale amènent une amélioration du comportement moteur des animaux ainsi qu'une réduction appréciable des changements histopathologiques et une meilleure performance motrice.

Mots clés: hématome/ dexaméthasone/ méthylprednisolone/ glucocorticoïde/ neutrophile/ astrocyte/ évaluation neurologique / cerveau

SUMMARY AND KEYWORDS

Despite the widespread clinical use of glucocorticoids for the acute treatment of cerebral injury, their effectiveness regarding intracerebral hemorrhage remains controversial. We evaluated dexamethasone (1 mg/kg) and methylprednisolone (at concentration of 10, 35 and 100 mg/kg) for the treatment of this condition using a rat model of cerebral hematoma induced by sub-cortical injection of collagenase. The treatment groups consisted of rats receiving dexamethasone or methylprednisolone intraperitoneally (IP) at 1 and 24 h following hematoma-induction. Positive controls (hematoma-induced rats receiving saline IP) and negative controls (sham operated animals receiving saline IP) was used. Each animal was evaluated neurologically 24 h prior to, as well as 24 h and 48 h following surgery. After the last neurological evaluation, animals were deeply anesthetized and the brain was removed following perfusion to determine the percentage of water of the brain, for microscopic examination and GFAP immunohistochemistry. Behavioral scores were significantly improved in the dexamethasone and methylprednisolone (35 and 100 mg/kg) treated groups. Hematoma volume was significantly smaller and neutrophils were less numerous in the hematoma in the glucocorticoid treated groups. The number of necrotic neurons in the cerebral cortex was less in the dexamethasone and methylprednisolone (100 mg/kg) treated groups than in the animals not receiving treatment. Astrocytes in the penumbral area of the hematoma were less in dexamethasone treated animals. Controls had many vascular changes including necrotic endothelium and fibrin deposits compared to dexamethasone and methylprednisolone (100 mg/kg) treated animals. In conclusion, dexamethasone and methylprednisolone administered shortly after an intracerebral hematoma appear beneficial in the treatment of this condition.

Keywords: Intracerebral hemorrhage/ hematoma/ dexamethasone/ methylprednisolone/ rat/ collagenase/ glucocorticoid/ neutrophils/ astrocytes/

TABLE DES MATIÈRES

PAGE TITRE.....	i
PAGE D'IDENTIFICATION DU JURY.....	ii
RÉSUMÉ EN FRANÇAIS ET LES MOTS CLÉS FRANÇAIS.....	iii
RÉSUMÉ EN ANGLAIS ET LES MOTS CLÉS ANGLAIS.....	v
TABLE DES MATIÈRES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
LISTE DES FIGURES.....	xiv
LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS.....	xvi
DÉDICACE.....	xix
REMERCIEMENTS.....	xxi
INTRODUCTION.....	1
RECENSION DE LA LITTÉRATURE.....	3
1. L'HÉMORRAGIE CÉRÉBRALE ET LES MALADIES VASCULAIRES CÉRÉBRALES.....	4
1.1 L'importance du sujet.....	4
1.2. Définition et classification de l'hémorragie cérébrale.....	5
1.3. Hémorragie cérébrale traumatique.....	6
1.3.1. Localisation de l'hémorragie cérébrale traumatique.....	6
1.4. Hémorragie cérébrale spontanée et maladies vasculaires cérébrales.....	7
1.4.1. Définition et classification.....	7
1.4.2. Étiologie et épidémiologie de l'hémorragie cérébrale spontanée.....	10
1.4.3. Localisation de l'hémorragie cérébrale spontanée.....	11
1.5. Hémorragie cérébrale chez les animaux: les signes cliniques.....	11
2. L'OEDÈME CÉRÉBRAL.....	12
2.1. Le rôle des neutrophiles.....	12
2.2. L'œdème cérébral vasogénique et cytotoxique.....	12
3. HISTOLOGIE DU CERVEAU ET RÉACTION CELLULAIRE AUX DOMMAGES.....	14
3.1. Les neurones.....	14
3.2. Les cellules de la glie.....	15
3.2.1. Les astrocytes.....	15
3.2.2. Les oligodendrocytes.....	16
3.2.3. La microglie.....	16
3.3. Les cellules épendymaires.....	16
3.4. Les vaisseaux sanguins.....	16

4. STRUCTURE ANATOMO-FONCTIONNELLE DES GANGLIONS DE LA BASE DU CERVEAU.....	18
4.1. Les voies nerveuses de la motricité.....	19
4.2. Les conséquences des lésions sur les noyaux gris de la base du cerveau.	
Le mouvement anormal.....	20
5. LE MODÈLE EXPÉRIMENTAL D'INJECTION INTRACÉRÉBRALE DE COLLAGÉNASE CHEZ LE RAT.....	22
5.1. La collagénase	22
5.2. Mécanismes de la production de la lésion par la collagénase	22
5.3. Évolution histopathologique de la lésion.....	24
5.4. L'évaluation fonctionnelle après l'injection sous-corticale de collagénase.....	26
6. LES GLUCOCORTICOÏDES: LA DEXAMÉTHASONE ET LA MÉTHYLPREDNISOLONE... 27	
6.1 Pharmacologie.....	27
6.1.1. Puissance relative.....	27
6.1.2. Demi-vie.....	28
6.2. Effets physiologiques et pharmacologiques.....	28
6.2.1. Les glucocorticoïdes et le système nerveux central.....	28
6.2.2. Les glucocorticoïdes et le système immunitaire.....	29
6.3. Effets défavorables des glucocorticoïdes.....	30
6.4. Les glucocorticoïdes et le traitement de l'inflammation, de l'œdème et de l'hémorragie cérébrale.....	30
6.4.1. L'évidence expérimentale à l'aide des modèles animaux.....	31
6.4.2. Les études cliniques.....	32
6.5. Les indications en médecine vétérinaire.....	32
8. OBJECTIF.....	34
MATÉRIEL, MÉTHODES ET RÉSULTATS.....	35
PREMIER ARTICLE.....	35
PAGE PRESENTATION.....	36
ABSTRACT.....	37
INTRODUCTION.....	38
MATERIALS AND METHODS.....	40
Animals.....	40
Surgical procedures.....	40
Treatments.....	41
Behavioral evaluations.....	41

	Page
Perfusion, histological procedures, immunohistochemistry and image analysis.....	42
Statistical analysis.....	43
RESULTS.....	44
Behavioral evaluations.....	44
Histological and immunohistochemistry results.....	44
DISCUSSION.....	46
REFERENCES.....	50
ACKNOWLEDGEMENTS.....	56
LEGENDS TO FIGURES.....	57
FIGURES.....	58
DEUXIÈME ARTICLE.....	63
PAGE PRESENTATION.....	64
ABSTRACT.....	65
INTRODUCTION.....	66
MATERIALS AND METHODS.....	68
Animals.....	68
Experimental design.....	68
Surgical procedures.....	68
Behavioral evaluations.....	69
Determination of Brain Water Content.....	69
Perfusion, histological procedures, immunohistochemistry and image analysis.....	70
Statistical analysis.....	70
RESULTS.....	71
Brain Water Content.....	71
Histological staining and immunohistochemistry.....	71
DISCUSSION.....	74
ACKNOWLEDGEMENTS.....	77
REFERENCES.....	78
LEGEND TO FIGURES AND TABLE.....	85
FIGURES AND TABLE.....	87
DISCUSSION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS ET CONCLUSION.....	91
1. INTRODUCTION.....	92
2. ÉVALUATION FONCTIONNELLE.....	92
3. ÉVALUATION DU CONTENU EN EAU DU CERVEAU.....	94
4. ÉVALUATION HISTOPATHOLOGIQUE ET IMMUNOCYTOCHIMIQUE.....	95

5. CONCLUSION: UN REGARD D'ENSEMBLE.....	100
SOURCES DOCUMENTAIRES.....	101

LISTE DES TABLEAUX

RECENSION DE LA LITTÉRATURE

Tableau I:	Recommandations thérapeutiques pour la dexaméthasone et la méthylprednisolone dans la littérature vétérinaire.....	33
------------	---	----

DEUXIÈME ARTICLE

Table 1:	Qualitative evaluations of the presence of erythrocytes, vascular changes and neuronal degeneration.....	90
----------	---	----

DISCUSSION

Tableau II:	Comparaison des résultats entre dexaméthasone et méthylprednisolone.....	99
-------------	---	----

LISTE DES FIGURES

RECENSION DE LA LITTÉRATURE

Figure 1: Classification de l'hémorragie cérébrale selon son origine et sa localisation.....	6
Figure 2: Désordres primaires causant les maladies vasculaires cérébrales.....	8
Figure 3: Les ganglions de la base du cerveau et les voies nerveuses de la motricité.....	21

PREMIER ARTICLE

Figure 1: Histogram representation of mean behavioral scores	58
Figure 2: Coronal section of a rat brain showing the hematoma produced following the injection of collagenase.....	59
Figure 3: Two representative photomicrographs showing the difference in the number of neutrophils.....	60
Figure 4: Reactive astrocytes in the penumbral area of the brain.....	61
Figure 5: Necrosis of a small blood vessel from the hematoma area.....	62

DEUXIÈME ARTICLE

Figure 1: Histogram representation of mean neurological exams.....	87
Figure 2: Histogram representation of mean rotarod scores.....	88
Figure 3: Histogram representation of brain water content.....	89

LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS

ATPase	adénosine triphosphatase
AVC	accident vasculaire cérébral
°C	degré Celsius
CNS	central nervous system (articles)
CA	Californie
Ca	Canada
cm ³	centimètre cube
df	degré de liberté (statistique)
DM	dexaméthasone
F	section frontale du cerveau
g	gramme
GABA	acide gamma amine butyrique
GC	glucocorticoïde
GFAP	protéine glio-fibrillaire acide
h	heure
H&E	hématoxyline et éosine
IP	intrapéritonéal
IV	intraveineux
K	potassium
kg	kilogramme
L	litre
(L)	left (articles)
Mg	magnésium
mg	milligramme
min	minute
mL	millilitre
mm	millimètre
mm ³	millimètre cube
MP	méthylprednisolone
n	nombre
Na	sodium
NaCl	chlorure de sodium
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NC	North Carolina
NJ	New Jersey
NY	New York
O	section occipitale du cerveau
OBIA	Ontario Brain Injury Association
OK	Oklahoma
ON	Ontario
P<	niveau significatif (statistique)
P1	section pariétale rostrale du cerveau
P2	section pariétale caudale du cerveau
PA	Philadelphia
pH	concentration en ions hydrogènes
PTAH	coloration acide phosphotungstique-hématoxyline
QC	Québec
(R)	right (articles)
SD	déviatiion standard
SNC	système nerveux central
Mo	Missouri
U	unit (articles)
UI	unités internationales
USA	United States of America
vs	versus
WD	poids sec du cerveau
WW	poids humide du cerveau
X	agrandissement microscopique
%	pourcentage
μL	microlitre
μm	micromètre

DÉDICACE

À mon épouse Silvia, pour son amour, son appui, sa loyauté et sa foi inébranlable.

À mon fils Rodrigo, pour tout ce qu'il m'a appris au sujet de la vie... et des logiciels.

À ma fille Nayla, dont la musique de ses rires m'a allumé quand les soucis et les obstacles semblaient trop grands.

REMERCIEMENTS

Les mots sont insuffisants pour témoigner ma reconnaissance au D^r Pascal Vachon. Il est, certainement, un professeur et un chercheur de grand talent. Je tiens à souligner spécialement son engagement tout à fait exceptionnel par rapport à mon projet de maîtrise mais aussi son appui précieux et ses conseils judicieux durant la période si ardue de mon insertion, et celle de ma famille, à la vie québécoise.

Un gros merci à la D^{re} Christiane Girard, codirectrice du projet, pour sa grande patience, ses conseils toujours pertinents et sa généreuse disponibilité pour répondre à toutes les questions.

INTRODUCTION

Le cerveau est un organe extrêmement complexe. Il reçoit, analyse et interprète les informations provenant des organes sensoriels, contrôle les différents aspects de la motricité volontaire des actions et des mouvements et régit aussi des fonctions automatiques végétatives. Chez l'humain, certaines fonctions plus complexes telles que l'attention, la conscience, le sommeil, la mémoire, l'imagination, la pensée et la créativité, dépendent aussi du cerveau.

Le cerveau accomplit ces fonctions spécialisées en se servant de ses caractéristiques anatomo-physiologiques qui sont uniques. La structure osseuse qui renferme étroitement le cerveau, le système d'autorégulation du flux sanguin, les requêtes spéciales de substrats métaboliques et d'oxygène, l'absence d'un réseau conventionnel de vaisseaux lymphatiques, la présence de liquide céphalorachidien et les restrictions fonctionnelles du contrôle immunitaire cérébral sont des exemples de la singularité de cet extraordinaire organe. Comme résultante de ces particularités, la réaction du cerveau aux processus pathologiques et aux dommages tissulaires ainsi que la réponse aux traitements sont, parfois, remarquablement différentes de celles observées dans les autres tissus corporels. (Cotran R.S., 1999; Victor M. et al., 2001).

RECENSION DE LA LITTÉRATURE

1. L'HÉMORRAGIE CÉRÉBRALE ET LES MALADIES VASCULAIRES CÉRÉBRALES

1.1. L'importance du sujet

L'hémorragie cérébrale associée au dommage traumatique primaire est la principale cause de mortalité ou d'incapacité sévère de la population de moins de 45 ans d'âge des sociétés industrialisées d'Occident et atteint principalement les hommes adultes à la période la plus productive de leur vie. Les accidents d'automobiles sont principalement en cause. Lors d'hémorragie cérébrale, il y a plusieurs de survivants avec des séquelles graves et beaucoup moins avec des séquelles modérés ou moyens (Fearnside M.R., Simpson D.A., 1997; Graham D.I., Gennarelli T.A, 1997; Krause J.F. et al., 1996). Les traitements sont en général insatisfaisants et controversés. (Crompton M.R., 1964; Graham D.I. et al., 1978; Kase C.S., Caplan L.R., 1994)

L'hydrocéphalie, la démence post-traumatique, l'épilepsie, les néoplasies (le méningiome) et certaines maladies infectieuses sont des exemples des séquelles possibles du trauma crânien associé à l'hémorragie cérébrale. (Cotran R.S., 1999).

Les maladies cérébrovasculaires sont la troisième cause de mort aux États-Unis, après les maladies cardiaques et le cancer. De plus, elles causent les désordres neurologiques les plus importants en terme de morbidité et de mortalité dans ce pays. On compte chaque année environ 500 000 cas d'accidents cérébrovasculaires (400 000 infarctus et 100 000 hémorragies) causant 175 000 morts (Victor M. et al., 2001). L'hémorragie intracérébrale, spontanée ou à cause d'une rupture d'anévrisme, est une des maladies cérébrovasculaires les plus dévastatrices: l'incidence est de 12-35/100 000 personnes (le pic d'incidence est autour de 60 ans) et elle est responsable de 8 à 14 % de tous les accidents vasculaires cérébraux. Après 30 jours, la mortalité est de 43 à 51 % (Giroud M. et al., 1991; Fogelholm R. et al., 1992; Broderick J. et al. 1993a, Broderick J. et al. 1994) avec une majorité des survivants devenus handicapés (Arana-Iñiguez R. et al., 1976; Broderick J.P. et al., 1993b; Brown R.D. et al., 1996; Cotran R.S., 1999; Foulkes M.A. et al., 1988; Lazorthes G., 1959; Lisk D.R. et al., 1994; Luessenhop A.J., 1967; Mayo N.E. et al., 1996; McKissock W. et al., 1959).

Au Canada, plus de 45 000 personnes par an sont hospitalisées à cause d'un dommage cérébral traumatique. Vingt-deux pour cent d'entre elles sont hospitalisées de façon

permanente. Ce dommage est la cause la plus importante de mortalité et d'incapacité parmi les jeunes Canadiens de moins de 40 ans (Census Data, Statistics Canada, OBIA, 1996). Par ailleurs, au Canada, près de 50 000 personnes par année sont victimes d'un accident vasculaire cérébral et parmi elles 14 000 en meurent. Cela fait des AVC une des causes les plus importantes de mortalité au pays (American Heart Association, Accidents Vasculaires Cérébraux, 1998). La recherche au sujet de l'hémorragie cérébrale est aussi très intéressante en médecine vétérinaire. L'hémorragie cérébrale associée au dommage traumatique primaire est souvent observée à cause d'accidents d'automobile, de chutes, de coups, de morsures, de coups de feu ou d'écrasements accidentels (De Lahunta A., 1983; Dewey C.W. et al., 1992; Hopkins A.L., 1996; Proulx J., Dhupa N., 1998; Summers B.A. et al., 1995). Les hémorragies associées aux accidents vasculaires cérébraux sont aussi diagnostiquées de plus en plus grâce aux progrès dans le domaine de la neuroimagerie. Presque tous les types d'AVC décrits chez l'homme ont été documentés en médecine vétérinaire (Platt S.R., Garosi L., 2003). Par contre, les dommages conséquents à cette condition ont reçu peu d'attention dans la littérature vétérinaire et la majorité des connaissances proviennent de la recherche et des modèles expérimentaux de la médecine humaine (Finnie J.W., Blumbergs P.C., 2002).

1.2. Définition et classification de l'hémorragie cérébrale

Selon une définition classique, l'hémorragie est une fuite de sang à l'extérieur des cavités vasculaires. Elle est la conséquence d'une lésion de la paroi des vaisseaux sanguins, soit à la suite d'un traumatisme, soit sans traumatisme apparent, suite à une lésion spontanée ou par l'augmentation pathologique de la perméabilité de cette paroi. Le vaisseau concerné peut être une artère, une veine, ainsi que le système artériolo-capillaire. L'hémorragie est externe lorsque le sang s'écoule à l'extérieur du corps et interne quand il ne s'écoule pas immédiatement à l'extérieur du corps et se collecte dans une séreuse, dans un organe ou dans une cavité. Si le sang s'accumule de façon circonscrite, on parle d'hématome. Évidemment, lorsque l'effusion atteint le tissu cérébral nous sommes en présence d'une hémorragie cérébrale (Auger P., Grmek, M.D., 1975; Jones C.R. et al. 1997).

L'origine de l'hémorragie cérébrale permet de faire une première classification en hémorragies cérébrales traumatiques et hémorragies cérébrales spontanées (Figure 1) (Cotran R.S., 1999).

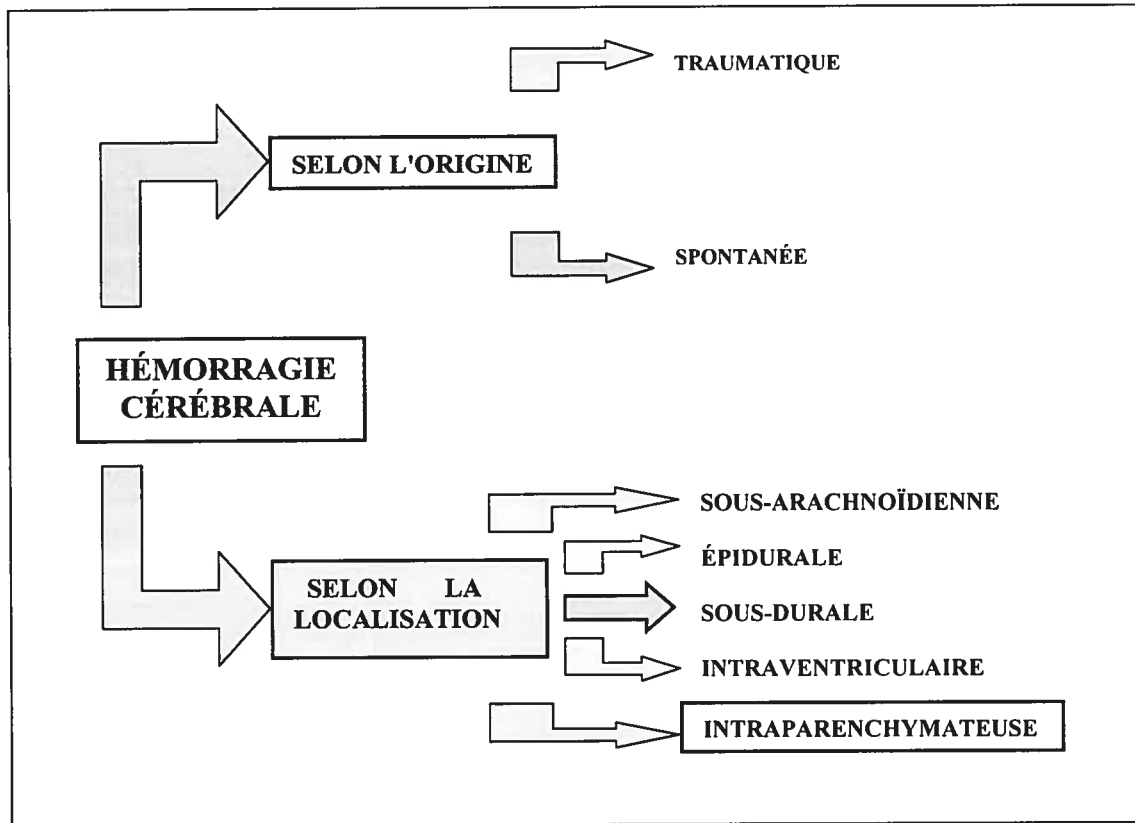


Figure 1. Classification de l'hémorragie cérébrale selon son origine et sa localisation.

1.3. Hémorragie cérébrale traumatique

Le dommage vasculaire traumatique s'observe souvent lors de traumatismes du système nerveux central. Il est le résultat du trauma direct et de la brusque rupture des parois des vaisseaux sanguins produisant l'hémorragie cérébrale traumatique. (Cotran R.S., 1999). L'hémorragie cérébrale suite à un trauma crânien est le type d'hémorragie cérébrale le plus fréquent chez les animaux. (Storts R.W., Montgomery D.L., 2001).

1.3.1. Localisation de l'hémorragie cérébrale traumatique

Selon la localisation du vaisseau sanguin affecté, l'hémorragie sera dans le compartiment épidural, sous-dural, sous-arachnoïdien, intraventriculaire ou

intraparenchymateux. Parfois, plus d'un compartiment est atteint (Figure 1) (Cotran R.S., 1999).

L'hémorragie sous-arachnoïdienne se caractérise par la présence de sang dans l'espace sous-arachnoïdien suite à la rupture d'un vaisseau cortico-méningé. C'est le type de dommage vasculaire le plus commun après un trauma à la tête. (Bérubé L., 1991; Cotran R.S., 1999). Dans le cas de l'hémorragie épidurale, le sang se retrouve dans l'espace épidural entre la face interne du crâne et l'aspect externe de la dure-mère. L'hématome sous-dural est situé entre l'aspect interne de la dure-mère et l'arachnoïde. Il a pour origine une rupture par cisaillement des ponts veineux méningés. L'hémorragie méningée peut être diffuse ou localisée et elle est, le plus souvent, secondaire à une hémorragie parenchymateuse corticale. L'hémorragie intraventriculaire est secondaire à une hémorragie parenchymateuse périventriculaire ou à un cisaillement des veines sous-épendymaires.

L'hémorragie intraparenchymateuse a pour origine le cisaillement des artères et des veines cérébrales profondes ou le contrecoup du cerveau sur les protubérances osseuses occasionnant la lésion des vaisseaux parfois à suite de fractures du crâne. Elle prend fréquemment la forme d'un hématome intracérébral. Il se distingue de la contusion car il s'installe dans un parenchyme cérébral normal dont les constituants sont seulement refoulés. À l'inverse, la contusion hémorragique suppose des lésions des axones et de la glie. De même, il se différencie aussi de l'attrition cérébrale qui est un broiement, une dilacération et une nécrose étendue du parenchyme avec lésions œdémateuse-hémorragiques non extensives de topographie frontale ou temporale. Les hématomes intracérébraux sont observés dans 2 à 16 % des traumatismes. Ils siègent, le plus souvent, dans les lobes frontaux, la matière blanche centrale ou dans les noyaux gris de la base du cerveau. Dans ce dernier cas, le pronostic est pire que celui des hématomes périphériques (Boulin A., 1987; Clarisse J. et al., 1994; Cosnard G. et al. 1991; Finnie J.W., Blumbergs P.C., 2002; Gaston A. et al., 1986; Jenkins A. et al., 1989; Macpherson P. et al. 1986; Storts R.W., Montgomery D.L., 2001).

1.4. Hémorragie cérébrale spontanée et maladies vasculaires cérébrales

1.4.1. Définition et classification

Les hémorragies cérébrales dont l'origine n'est pas traumatique sont appelées hémorragies cérébrales spontanées. Elles ne constituent qu'une catégorie de maladies de grande importance: les maladies vasculaires cérébrales.

Les maladies vasculaires cérébrales sont des désordres résultant de processus pathologiques des vaisseaux sanguins régionaux ou systémiques, en incluant:

- ❖ Obstructions de la lumière vasculaire par une embolie ou un thrombus,
- ❖ Rupture, lésion ou altération de la perméabilité de la paroi vasculaire,
- ❖ Altération de la viscosité du sang ainsi que de certains paramètres sanguins.

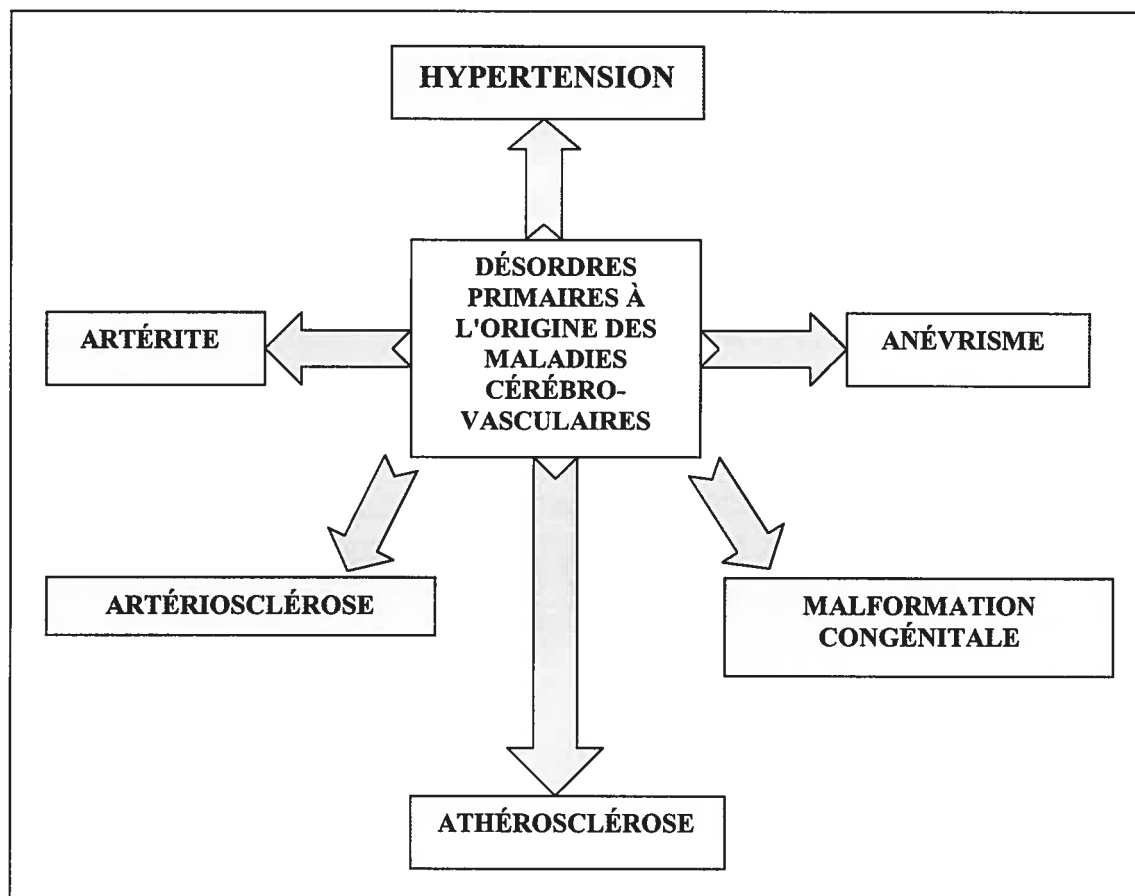


Figure 2. Désordres primaires causant les maladies vasculaires cérébrales.

Le processus pathologique peut être aussi considéré selon le désordre primaire en cause, soit l'hypertension, l'athérosclérose, l'artériosclérose, l'artérite, la dilatation à la suite d'un anévrisme ou d'une malformation congénitale (Figure 2) (Victor M. et al., 2001).

L'accident vasculaire cérébral (AVC), qu'il soit hémorragique ou non, est la dénomination clinique de la maladie vasculaire cérébrale lorsqu'elle est aiguë et on le définit comme la manifestation brusque d'un déficit neurologique focal non-convulsif. Les signes cliniques associés aux accidents vasculaires cérébraux sont divers et peuvent aller de faibles déficits difficiles à percevoir cliniquement, jusqu'à l'hémiplégie, le coma ou la mort. Les particularités du cours temporel des événements neurologiques sont la clé du diagnostic. Autrement dit, c'est la soudaine apparition des signes cliniques (de secondes à une apparition tardive après quelques jours) qui dénote un désordre vasculaire. (Ducker T.B., 1985; Victor M. et al., 2001).

Les accidents vasculaires cérébraux étaient auparavant considérés rares chez le chien et le chat (Greene, C.E., Braund K.G., 1993; Neer M.T., 1997). Néanmoins, le diagnostic de cette condition s'est accru pendant les dernières années grâce aux avancées dans le domaine de la neuroimagerie (Platt S.R., Garosi L., 2003). Presque tous les types d'AVC décrits chez l'homme ont été documentés en médecine vétérinaire. Par contre, la récupération suite à un épisode est beaucoup plus spectaculaire chez les animaux domestiques à cause, peut-être, du développement moins important du système pyramidal par rapport à l'homme. (De Lahunta A., 1983; Frankhauser R. et al. 1965; Neer M.T., 1997).

Du point de vue clinique, on peut parler de trois types d'accidents vasculaires cérébraux:

- *la thrombose,*
- *l'embolie et*
- *l'hémorragie.*

Cette dernière classification a des applications surtout thérapeutiques.

Sous des perspectives pathophysiologique et anatomopathologique, il est approprié de distinguer deux processus:

- ♦ Le premier inclut trois degrés successifs de dommages tissulaires: l'hypoxie, l'ischémie et l'infarctus résultant de la diminution ou de l'absence du flux sanguin et conséquemment d'oxygène,
- ♦ et le deuxième, *l'hémorragie* (qui fréquemment suit le premier), occasionné par la perte de l'intégrité des parois des vaisseaux sanguins (Cotran R.S., 1999).

Il est important de remarquer que les différentes structures du cerveau ont une sensibilité différente à l'anoxie ou à l'hypoxie suite à l'interruption de la circulation sanguine. Le néocortex, l'hippocampe, l'amygdale, les noyaux de la base du cerveau, le thalamus, la partie rostral du tronc cérébral et les cellules de Purkinje du cervelet s'avèrent les plus sensibles (Greene C.E., Braund K.G., 1993; Summers B.A. et al. 1995). D'autre part, quelques animaux semblent plus résistants que l'homme à l'hypoxie. L'ischémie cérébrale diffuse ne produit un dommage neuronal irréversible qu'après 15 minutes d'un manque sévère d'oxygène chez le chien et le chat (Greene, C.E., Braund K.G., 1993). Ceci suggère que la dégénérescence neuronale suite à une hypoxie est un processus de moindre importance chez les animaux que chez l'homme.

1.4.2. Étiologie et épidémiologie de l'hémorragie cérébrale spontanée

Parmi les étiologies les plus fréquentes des hémorragies cérébrales spontanées chez l'homme, on peut mentionner l'hypertension, les traitements prolongés avec des anticoagulants, les malformations vasculaires, l'abus de drogues, l'angiopathie cérébrale amyloïde et les complications des néoplasies intracrâniennes (Jenkins A. et al., 1989; Kase C.S., 1986). La plupart de ces étiologies sont aussi à l'origine des hémorragies cérébrales des animaux domestiques. L'hypertension est associée à des hémorragies intraparenchymateuses spontanées chez les animaux de compagnie. L'hypertension chez le chien peut être primaire ou secondaire à des maladies rénales et à l'hyperadrénocorticisme (Dukes J., 1992).

De façon secondaire, la vasculite, les néoplasies, les parasitoses migratoires, la toxoplasmose canine, les méningites bactériennes, la déficience en thiamine, les intoxications ou les coagulopathies peuvent aussi causer une hémorragie cérébrale spontanée en médecine vétérinaire (Greene, C.E., Braund K.G., 1993; Thomas W.B., 1996).

L'athérosclérose a été rapportée en médecine vétérinaire, surtout chez les chiens âgés affectés par une hypothyroïdie et chez les chiens de race schnauzer miniature ayant une hyperlipidémie idiopathique (Thomas W.B., 1996). D'autres maladies associées à l'infarctus du cerveau chez le chien sont la septicémie, les déficits de coagulation, le néoplasie, les endocardites, la cardiomyopathie et l'infection par *Dirofilaria immitis*. L'infarctus veineux est rare à cause des abondantes anastomoses existantes dans le cerveau (Neer M.T., 1997; Toole J.F., Burrow D.D., 1990).

1.4.3. Localisation de l'hémorragie cérébrale spontanée

Les hémorragies spontanées peuvent être localisées dans les mêmes endroits que celles d'origine traumatique. Elles sont habituellement supratentorielles et localisées dans le parenchyme cérébral. Lorsqu'elles sont d'origine hypertensive, elles sont généralement situées dans les ganglions de la base, le thalamus (65%), le pons (15%) et le cervelet (8%) (Brown R.D. et al., 1996; Garcia J.H., Anderson M.L., 1991; Mayo N.E. et al., 1996; Platt S.R., Garosi L., 2003).

1.5. Hémorragie cérébrale chez les animaux: les signes cliniques

Les signes cliniques reflètent la localisation de la lésion, d'où une grande variabilité selon le tissu atteint. La gravité peut aller de syndromes sous-cliniques à la mort. La marche en cercles, la désorientation, le syndrome d'hémi-attention (perte de l'acuité sensorielle d'un côté), la cécité, l'ataxie ou les déficits proprioceptifs, le torticolis (dystonie cervicale), la déviation de la tête, l'hypermétrie, les déficits moteurs et la démence sont des exemples des signes neurologiques observés. La présence de convulsions est un des symptômes le plus souvent rapportés. (Platt S.R., Garosi L., 2003; Shores A. et al. 1991).

La mort sans autres signe clinique peut être une conséquence de l'hémorragie cérébrale sévère observée lors d'un déficit aigu de coagulation, à la suite d'une intoxication par la warfarine ou lors de thrombocytopénie (Green R.A., Buck W.B., 1985). Tout comme les fractures compressives du crâne, l'hémorragie intracérébrale provoque l'augmentation de la pression intracrânienne et de l'œdème, ce qui peut causer une hernie des hémisphères cérébraux sous la tente du cervelet. La mort survient à la suite de la compression du tronc cérébral et de l'arrêt respiratoire (Oliver J.E. Jr., 1985).

2. L'OEDÈME CÉRÉBRAL

L'œdème cérébral correspond à une augmentation du contenu en eau du cerveau. Les conséquences peuvent être particulièrement graves puisque l'espace disponible pour l'expansion et la quantité de liquide céphalorachidien ainsi que le drainage lymphatique sont limités dans le cerveau (Klatzo, I., 1987).

Plusieurs études démontrent l'importance du rôle des substances vaso-actives (le facteur activateur des plaquettes, la prostaglandine E2) et d'autres amines (eicosanoïdes comme la bradykinine) dans la dysfonction de la barrière hémato-encéphalique. Cette dysfonction additionnée à l'initiation de la cascade inflammatoire et à l'augmentation de la perméabilité vasculaire ont comme conséquence l'œdème tissulaire (Holmin S. et al., 1995; Holmin S., Mathiesen T., 1995; Robert A.M., Godeau G. 1974; Rosenberg et al. 1993;).

2.1. Le rôle des neutrophiles

Les neutrophiles remplissent un rôle crucial pour la défense de l'organisme contre les infections bactériennes et pour la modulation de l'inflammation. Ils sont importants dans la formation de l'œdème tissulaire en causant une augmentation de la perméabilité vasculaire. Il a été démontré que la réduction du nombre des neutrophiles dans les tissus réduit la formation d'œdème inflammatoire (Sekiya S. et al., 1990; Wedmore C. V., Williams T.J., 1981). Y. Shiga et al. (1991) ont réussi à prouver cette action des neutrophiles dans le cas de l'œdème ischémique cérébral. Ils ont suggéré que les substances libérées par les neutrophiles ont un rôle important dans la production de l'œdème cérébral.

2.2. L'œdème cérébral vasogénique et cytotoxique

L'œdème du parenchyme cérébral peut être classifié selon son origine comme vasogénique ou cytotoxique. En pratique clinique, ils sont souvent tous les deux présents.

L'œdème cérébral vasogénique, apparaît lorsque l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique est détruite permettant aux fluides de s'échapper des vaisseaux sanguins vers l'espace intercellulaire du parenchyme cérébral. Il s'accumule principalement dans la matière blanche. Ce type d'œdème répond mieux à la thérapie médicale que l'œdème d'origine cytotoxique (Fenner W.R., 1998).

L'œdème cérébral vasogénique peut être généralisé ou localisé (dans ce dernier cas, il est associé à "l'effet de masse" provoqué par des abcès, des néoplasies ou des hémorragies focales).

Le deuxième type d'œdème, l'œdème cérébral cytotoxique, se produit lors de dommages cellulaires et il est toujours généralisé (Cotran R.S., 1999). Cet œdème peut être posttraumatique et s'accumule dans les cellules, notamment dans les neurones et les astrocytes et sa cause est généralement l'hypoxie cérébrale (Fenner W.R., 1998).

3. HISTOLOGIE DU CERVEAU ET RÉACTION CELLULAIRE AUX DOMMAGES

L'histologie normale ainsi que la réaction aux dommages des différentes composantes du cerveau, incluant les neurones, la glie, les cellules composant les méninges et celles des vaisseaux sanguins, ont des particularités qui méritent une description détaillée.

3.1. Les neurones

La structure et la dimension des neurones varient selon la région du système nerveux considérée. Chez les mammifères, la dimension des neurones varie entre 5 μm et 75 μm . La coloration hématoxyline et éosine permet de distinguer le corps cellulaire ou péricaryon (éosinophile), un noyau important (basophile), un nucléole proéminent et la substance de Nissl. Le nom soma se réfère à l'ensemble du péricaryon et du noyau. La dimension et la forme du péricaryon varient d'une population neuronale à l'autre. Il peut être circulaire (neurones granulaires de l'hippocampe ou du cortex cérébelleux) à pyramidal (néocortex) ou polyédrique (certains noyaux du tronc cérébral). Les axones et dendrites peuvent aussi être observés avec cette coloration, mais il y a des colorations spécifiques pour les mettre en évidence.

Les neurones réagissent à différents processus tels que l'hypoxie, l'ischémie, les infections ou les substances toxiques. Des changements précoces peuvent parfois être détectés, 4 à 8 heures après le dommage neuronal, ceux-ci consistent en de petites vacuoles dans le péricaryon et en gonflement du corps cellulaire. Douze à 48 heures après une lésion, un dommage irréversible peut déjà être très évident. On peut noter la disparition de granules de Nissl (chromatolyse), d'abord dans la région cytoplasmique centrale, mais qui devient complète. Parfois il y a un assombrissement du cytoplasme, mais, plus souvent, il est possible d'observer une augmentation de l'éosinophilie. On qualifie alors les neurones de "neurone rouge". Le corps cellulaire peut alors se contracter, le noyau devient pycnotique et le nucléole disparaît. La forme change et le neurone devient angulaire (Cotran R.S., 1999; Koestner A., Jones T.C., 1997).

3.2. Les cellules de la glie

Ces cellules servent de support aux neurones, aux axones et aux dendrites et elles accomplissent d'importantes fonctions physiologiques tels que la préservation de l'équilibre des fluides, des électrolytes et du métabolisme énergétique. Elles sont également impliquées dans les processus pathologiques, l'inflammation et la réparation tissulaire. Il est difficile de distinguer les différents types de cellules gliales si on utilise les colorations conventionnelles, mais la petite dimension et la forme du noyau peuvent aider à leur identification. Les processus cytoplasmiques ne sont pas observables avec l'hématoxyline et l'éosine (Cotran R.S., 1999).

3.2.1. Les astrocytes

Près de la moitié des cellules gliales sont des astrocytes. Ils sont 10 fois plus nombreux que les neurones. Il est difficile de différencier les astrocytes et les petits neurones. Néanmoins, les neurones ont un nucléole visible tandis qu'il n'est pas observable dans les astrocytes (Montgomery D.L., 1994). Les astrocytes ont un noyau rond ou ovale avec de la chromatine dispersée (basophile). Ils ont deux façons de réagir au dommage tissulaire: par une prolifération, on parle alors de gliose ou par un processus de dégénérescence entraînant la mort cellulaire. La gliose est l'indice histopathologique de dommage tissulaire nerveux le plus important. Lors de gliose, les astrocytes présentent de l'hypertrophie et de l'hyperplasie, le noyau est plus gros et il y a présence de vésicules. Le cytoplasme, auparavant pâle, est plus notable et prend une couleur rose brillante avec de nombreuses projections (gémistocytes) (Cotran R.S., 1999; Montgomery D.L. 1994).

Plusieurs fonctions des astrocytes peuvent collaborer à la réparation tissulaire après un dommage. Ainsi, la production et l'excrétion de la matrice extracellulaire de protéines d'adhésion, des facteurs neurotrophiques, des protéines stimulant l'angiogenèse, de la régulation du pH, du contrôle de la concentration des ions et de l'osmolarité, de la phagocytose, de la détoxification, de l'induction et entretien des caractéristiques de la barrière hémato-encéphalique sont d'importance dans la résolution des processus inflammatoires (Montgomery D.L. 1994).

La plus importante caractéristique ultrastructurale qui permet d'identifier les astrocytes est la présence de filaments. La composante prédominante de ces filaments, la protéine glio-fibrillaire acide (GFAP) est assez spécifique des astrocytes dans le SNC. Cela

rend possible une identification précise à l'aide de l'immunocytochimie (Bignami A. et al., 1972; Bignami A. et al., 1980; Eng L.F. et al. 1971).

3.2.2. Les oligodendrocytes

Les prolongations cytoplasmiques des oligodendrocytes entourent les axones et forment l'enveloppe de myéline. Avec les colorations conventionnelles, les oligodendrocytes ont un petit noyau rond semblable à celui d'un lymphocyte et souvent ils se regroupent. Les oligodendrocytes sont affectés surtout pendant le processus de démyélinisation (Cotran R. S., 1999).

3.2.3. La microglie

Les cellules de la microglie ont des caractéristiques antigéniques communes avec les monocytes-macrophages périphériques. La microglie répond au dommage en proliférant autour des tissus nécrosés et des neurones morts. On appelle ce dernier processus la neuronophagie. Les macrophages du sang et la microglie sont les principaux éléments phagocytaires présents dans les foyers d'inflammation cérébrale (Cotran R.S., 1999).

3.3. Les cellules épendymaires

Les cellules épendymaires forment les parois du système ventriculaire et sont étroitement liées aux cellules cuboïdes des plexus choroïdes. À certains endroits, elles sont ciliées ce qui facilite le mouvement du liquide cérébro-spinal. Les cellules épendymaires ne présentent pas une réponse particulière à l'hémorragie cérébrale, en fait, elles sont considérées comme étant des cellules non-réactives (Storts R.W., Montgomery D.L., 2001).

3.4. Les vaisseaux sanguins

Les vaisseaux sanguins pénètrent dans le système nerveux central à travers des tunnels recouverts par la pie-mère, pour former l'espace périvasculaire. La pie-mère disparaît avant que les vaisseaux sanguins ne deviennent des capillaires. Dans le système nerveux central, les capillaires sont complètement entourés des projections des astrocytes. La perméabilité vasculaire est diminuée par cette disposition spéciale, ce qui empêche ou

retarde le passage de certaines substances. Cette disposition tissulaire particulière s'appelle la *barrière hémato-encéphalique* (Cotran, R.S., 1999).

L'espace périvasculaire a une conformation particulière dans le SNC. Les parois des vaisseaux sanguins sont entourées d'un espace dans lequel les cellules et les fibres sont assez séparées pour permettre la circulation de la lymphe. Ces structures sont nommées espaces de Virchow-Robin. Au cours du processus inflammatoire, les leucocytes s'accumulent dans ces espaces. Ces infiltrations sont appelées *cuffings* périvasculaires (Cotran R.S., 1999; Koestner A., Jones T.C., 1997).

4. STRUCTURE ANATOMO-FONCTIONNELLE DES GANGLIONS DE LA BASE DU CERVEAU

Les noyaux gris de la base du cerveau sont des structures nerveuses aux fonctions très complexes dont plusieurs sont encore méconnues. Ils se composent de trois gros noyaux localisés dans la matière grise sous-corticale. Les noyaux caudé et putamen forment le néostriatum et ils ont une origine télencéphalique. Le globus pallidus ou pallidum est diencephalique.

Chez la plupart des mammifères, le noyau caudé a une forme de longue virgule située latéralement aux ventricules latéraux. Le putamen est latéral par rapport au noyau caudé et ils sont souvent tous deux regroupés sous le nom de néostriatum. Par contre, les noyaux caudé et putamen ne forment qu'une seule structure chez le rat appelée le caudoputamen.

Le pallidum est composé de deux parties, le noyau interne et le noyaux externe que l'on appelle communément le globus pallidus interne et le globus pallidus externe.

Tous les noyaux gris de la base sont étroitement interconnectés du point de vue anatomique et fonctionnel avec le noyau subthalamique et la *substantia nigra*. Cette dernière est de plus en plus souvent considérée comme faisant partie intégrante du pallidum médian puisqu'elle a une cytologie, des connexions et des fonctions très semblables. La substantia nigra est composée d'une zone réticulée ventrale (*pars reticulata*) et d'une zone compacte dorsale (*pars compacta*) pigmentée.

Les trois noyaux gris, associés au noyau subthalamique et à la substantia nigra, ainsi que le cervelet, le cortex moteur et les noyaux moteurs du tronc cérébral jouent un rôle majeur dans le contrôle de la motricité somatique, même sans avoir de connexions directes avec la moelle épinière. Leur pathologie se traduit en un éventail de signes allant d'une pauvreté extrême du mouvement (maladie de Parkinson), jusqu'à des mouvement hors du contrôle volontaire (maladie de Huntington) (Richard D., Orsal D., 2001).

Les ganglions de la base ont des connexions avec le cortex moteur primaire et associatif en relation avec le lobe frontal rostral. L'aire motrice primaire est impliquée principalement dans l'exécution du mouvement et la planification du mouvement se retrouve au niveau du cortex préfrontal. Par conséquent, les noyaux gris pourraient aussi jouer un rôle dans la planification du mouvement mais également dans certains autres

comportements tels que la pensée, les émotions, la mémoire et le raisonnement puisqu'ils se localisent dans le cortex frontal. (Martin J.H., 1989).

Les structures sous-corticales telles que le thalamus, les ganglions de la base et la capsule interne sont irriguées par des branches de l'artère carotide interne et des trois artères cérébrales. Le striatum reçoit un apport supplémentaire de branches perforantes de l'artère cérébrale moyenne, appelées artères lenticulostriatales. D'autre part, les régions localisées rostromédialement reçoivent l'apport de branches perforantes de l'artère cérébrale antérieure. Le globus pallidus est irrigué par l'artère choroïdienne antérieure, qui est une branche de la carotide interne (Martin J.H., 1989). Donc, un thrombus pourrait affecter de façon différentielle les régions associées au cortex.

4.1. Les voies nerveuses de la motricité (Figure 3)

Les grandes lignes des principales connexions du contrôle moteur peuvent se résumer en trois points.

1. Les voies afférentes provenant des cortex moteurs primaire et secondaire pénètrent les noyaux gris de la base par le néostriatum (composé des noyaux caudé et putamen) et par le globus pallidus interne et externe. Ces voies afférentes excitatrices directes sont organisées topographiquement. Ainsi, le putamen, plus proche des aires motrices, est impliqué dans le contrôle moteur et le noyau caudé, plus en relation avec les aires frontales et préfrontales, est impliqué dans des fonctions cognitives telles que la préparation du mouvement. Le néostriatum ventral, connecté avec le système afférent intervient dans les mécanismes reliés aux comportements et aux émotions.
2. Les voies efférentes quittent les noyaux de la base par le globus pallidus interne. Les axones de ce noyau constituent la voie efférente des noyaux gris de la base. Il existe un rétro-contrôle du néostriatum par la partie réticulaire de la substance noire.

Voies efférentes directes: Ces voies efférentes sont inhibitrices et projettent sur les noyaux centro-médian, ventral antérieur et ventrolatéral du thalamus. Ces noyaux projettent vers le cortex préfrontal et les aires motrices supplémentaires, prémotrice

et motrice primaire. La connexion est, dans ce cas, excitatrice et participe à l'initiation et à l'exécution du mouvement.

Voies efférentes indirectes. La voie indirecte implique le néostriatum et le globus pallidus latéral projetant vers le noyau subthalamique qui envoie des axones à la fois vers le globus pallidus interne-substance noire *pars reticulata*. La mise en jeu de cette voie aura pour conséquence de bloquer la réalisation d'un mouvement.

3. La substance noire *pars compacta* libère de la dopamine sur le néostriatum. Les connexions nigro-néostriées relient la substance noire *pars compacta* à deux types différents de neurones néostriés en agissant soit sur la voie efférente directe, soit sur la voie indirecte. Les effets se conjuguent donc pour faciliter ou inhiber la réalisation du mouvement (Côté L., 1983 ; Richard D., Orsai D., 2001).

4.2. Les conséquences des lésions sur les noyaux gris de la base du cerveau. Le mouvement anormal

Les lésions des noyaux gris de la base se traduisent cliniquement par des mouvements anormaux. On peut les classer fondamentalement en hyperkinésie, hypokinésie et dystonie.

Les hyperkinésies sont caractérisées par une augmentation du nombre moyen des mouvements normaux qui, de plus, sont entrecoupés d'actes moteurs rapides, incontrôlables, faisant intrusion dans le flux normal de l'activité motrice.

Le modèle le plus connu des hypokinésies est la maladie de Parkinson. Le syndrome présente quatre signes cliniques essentiels: l'akinésie (pauvreté de l'initiation du mouvement), la bradykinésie (mouvements lents), la rigidité et le tremblement au repos.

Les dystonies sont des désordres moteurs, souvent héréditaires qui impliquent le putamen, le pallidum ou les noyaux ventral antérieur et ventral latéral du thalamus. Elles sont caractérisées par l'adoption de postures inhabituelles, fixes, pouvant durer plusieurs minutes.

Sauf dans le cas de l'akinésie, la plupart des mouvements anormaux se superposent ou s'intègrent à l'activité normale. On peut supposer que les noyaux gris de la base sont importants pour la programmation du mouvement et qu'ils pourraient dans une situation donnée favoriser certains mouvements au détriment d'autres. Ils pourraient aussi comparer

la commande motrice d'un mouvement avec les informations proprioceptives relatives au mouvement en cours (Richard D., Orsal D., 2001).

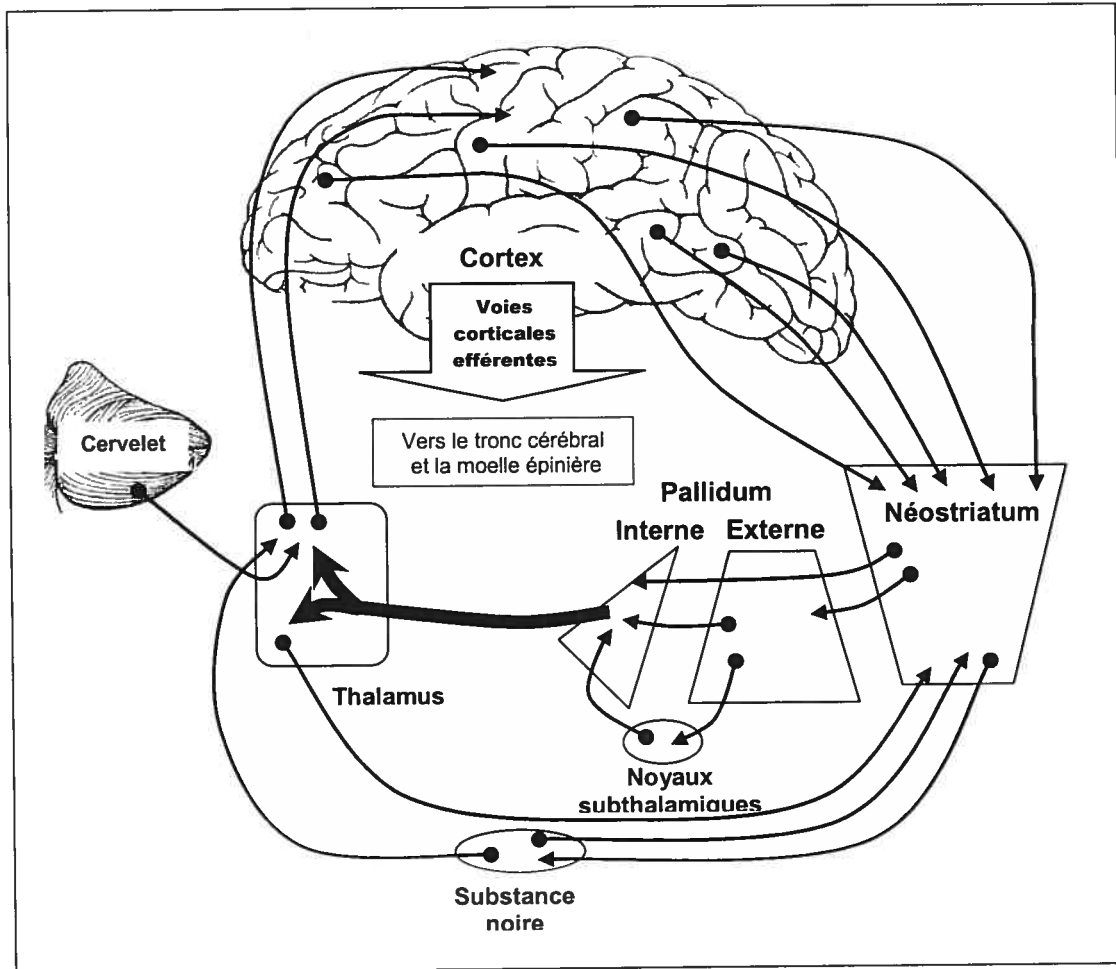


Figure 3: Représentation schématique des ganglions de la base du cerveau et des voies nerveuses de la motricité (Adaptée de Côte L., 1983).

5. LE MODÈLE EXPÉRIMENTAL D'INJECTION INTRACÉRÉBRALE DE COLLAGÉNASE CHEZ LE RAT

Plusieurs modèles expérimentaux ont été développés pour éclairer les mécanismes fondamentaux et la complexité de la séquence d'événements après un dommage cérébral. Néanmoins, aucun modèle n'est capable de reproduire le spectre complet des dommages cérébraux. Les injections intracérébrales (du sang autologue, des différents composants de celui-ci, d'huile minérale), le placement des ballons gonflables, les lésions par le froid, les modèles d'accélération inertielle et d'accélération avec impact sont des exemples des approches essayées (Finnie J.W., Blumbergs P.C., 2002). Par contre, ils ont permis d'élucider certains aspects de la pathogénie du problème.

Le modèle d'injection intracérébrale de collagénase, développé récemment par Rosenberg et ses collègues, cause un dommage semblable aux lésions cérébrales focales primaires avec un dommage vasculaire et la formation d'un hématome (Rosenberg G.A. et al. 1990). Le mécanisme de production de la lésion est similaire à celui de la lésion spontanée accidentelle. Ce modèle a été soumis à une vaste gamme de contrôles (histopathologique, immunocytochimie, imagerie, comportemental, biochimique et physique) (Chesney B.A. et al., 1995; Rosenberg G.A. et al., 1990), il s'avère donc un modèle intéressant pour l'étude de l'hémorragie cérébrale.

5.1. La collagénase

La collagénase est une enzyme capable de dégrader le collagène. Elle est un des médiateurs impliqués dans la réponse de l'organisme à l'infection, au dommage cellulaire, à l'hémorragie ou aux troubles métaboliques. La collagénase peut être libérée entre autres par des neutrophiles dans les sites d'inflammation. En conséquence, la collagénase autant que les neutrophiles jouent un rôle important dans l'étiopathogénie du dommage tissulaire inflammatoire (Flowers R.J., 1989; Harris E.D. Jr., Krane, S.M., 1974; Weiss S.J., 1989)

5.2. Mécanismes de la production de la lésion par la collagénase

La collagénase s'est révélée particulièrement efficace pour l'augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique. Cette altération est déjà présente 20 minutes après l'injection intracérébrale de collagénase et elle demeure active pendant plusieurs jours (Robert A.M., Godeau G., 1974; Rosenberg G.A. et al., 1993).

Le rôle de la membrane basale dans l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique demeure inconnu. Certains auteurs suggèrent qu'elle fournit un soutien physique (Goldstein G.W., 1979). Dans les autres tissus, la membrane basale est importante pour contrôler la perméabilité vasculaire (Timpl R., Dziadek M., 1986). L'action presque immédiate de l'injection de collagénase suggère que les enzymes opèrent directement sur le tissu et non par des mécanismes plus complexes (Rosenberg G.A. et al., 1993). Il est fort possible que des toxines endogènes (glutamate, oxyde nitrique ou radicaux libres) collaborent au dommage du cerveau dans le modèle d'hémorragie intracérébrale à la suite d'une injection de collagénase. L'enzyme briserait la matrice extracellulaire et la membrane basale autour des vaisseaux capillaires. Ceux-ci seraient les sites d'action les plus importants des collagénases. Le collagène de type IV est une protéine structurelle majeure de la membrane basale des vaisseaux sanguins et il est dégradé par l'action de la collagénase (Kefalides N.A., 1970; Kefalides N.A., 1971; Kefalides N.A., 1973; Robert L. 1971; Timpl R., Dziadek M., 1986; Vracko R. 1974). La présence de collagénase dans le tissu conjonctif des parois des vaisseaux sanguins cérébraux a été aussi démontrée. L'activité de cette collagénase tissulaire dépendrait d'autres facteurs que de sa seule présence. (Montfort I., Pérez-Tamayo R., 1975).

L'hémorragie intracérébrale provoque des dommages par plusieurs mécanismes. La destruction directe de l'architecture tissulaire, qui débute immédiatement au moment de l'hémorragie, est causée par l'infiltration du sang dans les différents plans du tissu cérébral. Le processus s'accroît par l'augmentation de la pression intracrânienne, la distorsion et le vasospasme de la microvascularisation qui causent l'œdème et un dommage ischémique. Une grande variété de facteurs peut donc collaborer à la production du dommage, en incluant l'ischémie locale, la libération de toxines faisant suite à l'hémolyse, l'activation de la thrombine et l'infiltration leucocytaire (Xue M, Del Bigio M.R., 2000).

Il a été suggéré que le processus de mort cellulaire et d'inflammation à la suite d'une hémorragie cérébrale atteint son maximum 48 heures après le début de celle-ci. Puisqu'un dommage important se produit même si la quantité de sang dans le parenchyme cérébral et la distorsion tissulaire sont minimales, d'autres mécanismes provoquant la détérioration tissulaire sont probablement en cause. Des chercheurs ont porté une attention particulière à certaines composantes du sang. Le plasma, le sérum ou les hématies ont

cependant un effet négligeable. Les leucocytes isolés des autres composantes sanguines ont un effet défavorable plus important (Xue M., Del Bigio M.R., 2000).

5.3. Évolution histopathologique de la lésion

Dans le cas du modèle d'hémorragie intracérébrale induite par l'injection dans le striatum de 0.5 UI de collagénase bactérienne chez le rat, la destruction du collagène de la membrane basale des vaisseaux sanguins produit une sortie immédiate du sang dans le tissu environnant. **Dix minutes** après l'injection, on peut voir au microscope du sang extravasé autour des vaisseaux sanguins les plus fins (Del Bigio M.R. et al., 1996).

De **20 à 45 minutes** post-injection, il est possible d'observer des regroupements d'érythrocytes de 50 à 100 μm de diamètre parmi des cellules cérébrales intactes en plusieurs endroits de la matière blanche du striatum et le long du trajet de l'aiguille (Del Bigio M.R. et al., 1996; Rosenberg G.A. et al., 1990).

Après **une heure**, les regroupements d'érythrocytes sont encore discontinus, bien que l'ensemble de l'hématome prenne une forme ovoïde avec du sang dans la région marginale, dans la matière blanche. À l'aide de colorations spéciales, on peut voir de petits dépôts de fibrine dans le striatum. Il y a du sang infiltré dans le tissu cérébral, qui par ailleurs semble normal. Le sang suit probablement le trajet qui offre le moins de résistance, le long des vaisseaux sanguins et des axones (Del Bigio M.R. et al., 1996).

Deux heures après l'injection de collagénase, l'hémorragie est presque contiguë et ne respecte pas les limites microanatomiques. Dans le voisinage de l'hématome on peut constater la présence de cellules gliales réactives avec un cytoplasme aqueux et parfois éosinophilique. (Del Bigio M.R. et al., 1996).

Quatre heures après le déclenchement de l'hémorragie, l'hématome est grossièrement rond, avec des extensions dans la matière blanche dorsalement au striatum. Dans quelques cas on peut voir du sang dans le ventricule latéral ipsilatéral. Bien que l'hématome soit à ce moment étendu, on n'observe pas de nécrose du parenchyme. Les érythrocytes sont abondants dans le tissu et parmi les cellules cérébrales intactes (Del Bigio M.R. et al., 1996; Rosenberg G.A. et al. 1990).

Douze heures après le début de l'hémorragie, le tissu cérébral au centre de l'hématome est fragmenté et contient des neurones éosinophiliques avec des noyaux karyorectiques. Dans la bande de tissu autour de la lésion, il y a des leucocytes

polymorphonucléaires et quelques cellules gliales gonflées avec un cytoplasme pâle. Certaines colorations immunocytochimiques démontrent que de l'œdème, provenant du liquide plasmatique, est présent autour de l'hématome et dans la matière blanche. Cet œdème est présent jusqu'à 72 heures suivant l'injection. Les images de résonance magnétique confirment cette donnée, le montrant de façon encore plus claire (Del Bigio M.R. et al., 1996).

Après **24 heures**, la lésion a deux zones différentes. La zone centrale est la plus grande, avec de nombreuses petites aires composées d'érythrocytes pauvrement colorés, entourés de fragments de parenchyme nécrosé. Les vaisseaux sanguins sont nécrosés et ils contiennent des thrombi fibrineux. Les aires de parenchyme nécrosé et celles contenant des érythrocytes sont séparées par une fine couche de fibrine extravasée. La zone périphérique de la lésion est une bande étroite, pauvrement colorée, qui contient des cellules de la glie ou des neurones viables ou nécrosés (Del Bigio M.R. et al., 1996). Il y a dans cette zone périphérique des foyers d'hémorragie composés de globules rouges intacts et de quelques neutrophiles. La structure des vaisseaux sanguins montre de la variabilité, quelques-uns sont intacts tandis que d'autres présentent de la nécrose et de la thrombose (Rosenberg G.A. et al., 1990).

Les astrocytes présentent une hypertrophie maximale observable du jour 4 jusqu'au jour 14 post-hémorragie, mais à 24 heures post-lésion il est possible de la détecter en utilisant des colorations immunocytochimiques (Montgomery D.L., 1994). Il a été suggéré que la mort neuronale focale serait à l'origine d'une vaste réaction gliale astrocytique qui suit les connections des neurones nécrosés et qui demeure pendant un certain temps (Isacson O. et al., 1987).

Quarante-huit heures après l'induction de l'hémorragie, la résonance magnétique et l'histopathologie montrent que l'hématome a l'apparence d'une cible. Dans la zone centrale, les globules rouges sont plus détériorés et les détritiques du tissu nécrosé sont entourés par des neutrophiles, quelques leucocytes mononucléaires et de rares ensembles d'érythrocytes intacts. Dans la zone périphérique l'infiltration des leucocytes polymorphonucléaires est intense. On peut voir aussi des érythrocytes intacts et des vaisseaux sanguins dont l'endothélium est hypertrophié avec des cellules inflammatoires dans l'espace périvasculaire (Del Bigio M.R. et al., 1996; Rosenberg G.A. et al., 1990). Les neutrophiles sont présents de façon constante et diffuse dans l'aire de la lésion, mais

n'apparaissant pas comme une bande compacte. Les images de résonance magnétique montrent que l'œdème est confiné surtout à la matière blanche (Del Bigio M.R. et al., 1996; Rosenberg G.A. et al. 1990).

5.4. L'évaluation fonctionnelle après l'injection sous-corticale de collagénase

L'hémorragie causé par une injection intracérébrale de collagénase produit de nombreuses signes cliniques. Certains se manifestent déjà 4 h après l'injection (la tendance au tournis ipsilatéral à la lésion, une perte controlatéral de la force de préhension ainsi que de la coordination nécessaire pour marcher sur un barre étroite) et s'aggravent jusqu'à 48 h. À 72 h les déficits commencent à s'améliorer mais ils continuent à être très importants durant toute la première semaine (Rosenberg G.A., 1990). D'autres signes neurologiques aigus ont été aussi quantifiés, comme la présence d'une rétraction déficitaire du membre antérieur après déplacement forcé (Del Bigio M.R. et al. 1996), la perte de symétrie des membres antérieurs lors que le rat est suspendu par la queue et la diminution de l'activité des animaux après l'induction de l'hémorragie (Leyden P. et al. 1999). J.A. Chesney et al., (1975) ont évalué pendant 70 jours la tendance au tournis (remarqué par une injection d'apomorfine) et l'habilité des animaux pour initier la marche. Ils ont démontré que les déficits produits dans le conditions de ce modèle persistent pour une période prolongée. Ceci suggère que le modèle d'hémorragie intracérébrale développé par Rosenberg et ses collègues peut être utilisé pour la recherche des traitement ciblés a la restauration tissulaire, des mécanismes aigus de production de la lésion, mais aussi de ceux de la réparation tissulaire et fonctionnelle d'une plus longue durée.

6. LES GLUCOCORTICOÏDES: LA DEXAMÉTHASONE ET LA MÉTHYLPREDNISOLONE

L'emploi thérapeutique des corticostéroïdes a commencé en 1949 lorsque des patients souffrant d'arthrite rhumatoïde ont eu une amélioration remarquable après l'utilisation de cortisone. Dans les années qui ont suivi, les corticostéroïdes sont devenus un recours pharmacologique utilisé couramment en médecine humaine et vétérinaire, particulièrement pour le traitement de l'inflammation sévère et des dommages auto-immuns. Malheureusement, des effets défavorables se sont également manifestés. Parmi ces effets, l'atrophie adrénocorticale induite par les stéroïdes a été décrite en 1961 pour la première fois en médecine vétérinaire chez le chien (Chastain C.B., 1993).

6.1. Pharmacologie

Les corticostéroïdes sont un groupe d'hormones secrétées par les cellules du cortex surrénalien. Leur synthèse exige une série d'étapes à partir du cholestérol et produit des hormones sexuelles, les minéralocorticoïdes et les glucocorticoïdes. Le nom glucocorticoïdes (GC) provient de la capacité de ces hormones à promouvoir la glycogénolyse.

Environ 95% des corticostéroïdes secrétés par la glande surrénale chez le chien sont des glucocorticoïdes. Les glucocorticoïdes naturels, le cortisol et la corticostérone, s'introduisent dans la cellule et se lient de façon réversible aux récepteurs cytoplasmiques. L'ensemble hormone-récepteur se rend au noyau et module l'expression génique dans le but de produire les enzymes et les autres protéines responsables des effets de ces substances.

Chez le chien, les glucocorticoïdes sont enlevés de la circulation sanguine par le foie par conjugaison avec l'acide glucuronique et des sulfates pour finalement être éliminés par les reins. La voie d'excrétion principale chez le chat est la voie biliaire (Chastain C.B., 1993).

6.1.1. Puissance relative

La puissance des GC s'exprime par rapport à l'hydrocortisone, considérée comme l'unité de mesure. La méthylprednisolone est cinq fois plus puissante tandis que la dexaméthasone est 30 fois plus puissante que l'hydrocortisone (Chastain C.B., 1993).

6.1.2. Demi-vie

Certaines études suggèrent fortement que la demi-vie des corticoïdes chez l'humain est similaire à celle du chien et des autres espèces domestiques. La méthylprednisolone est dans le groupe des glucocorticoïdes d'action intermédiaire (vie moyenne de 12-36 h) tandis que la dexaméthasone est classifiée comme longue ayant une durée d'action de plus de 48 h (Chastain C.B., 1993).

6.2. Effets physiologiques et pharmacologiques

Les glucocorticoïdes ont une action permissive sur les effets lipolytiques, vasopressifs et broncho-dilatateurs des catécholamines. Comme il a été susmentionné, ils ont aussi une forte action gluconéogénique en facilitant l'action du glucagon. D'autres actions importantes leur sont attribuées telles que l'entretien de l'activité normale du myocarde et du fonctionnement cérébral ainsi que la distribution des compartiments hydriques et une compensation des conséquences nocives du stress. Ils facilitent la diurèse et la kaliurie ainsi qu'une inhibition de l'entrée d'eau dans les cellules. Les glucocorticoïdes ont également des effets désintoxicants tels que la stabilisation des membranes lysosomiales, la réduction de la perméabilité capillaire et de la tuméfaction endothéliale. Ils contribuent aussi à la suppression des effets des amines vaso-actives et au bon fonctionnement des membranes cellulaires (Chastain C.B., 1993).

6.2.1. Les glucocorticoïdes et le système nerveux central

Il a été démontré que les glucocorticoïdes causent l'inhibition de la migration de neutrophiles et des macrophages dans les aires d'inflammation et interfèrent avec le processus de phagocytose dans la moelle épinière et le cerveau. Ils peuvent aussi diminuer la libération d'enzymes hydrolytiques, la peroxydation des membranes et la production de radicaux libres associés à l'inflammation qui survient après l'ischémie focale cérébrale (Fauci A.S., et al., 1976; Kochanek P.M., Hallenbeck J.M., 1992).

Dans le cerveau, il est possible que les glucocorticoïdes diminuent le seuil des convulsions, la réponse aux pyrogènes et qu'ils produisent de la somnolence et une stimulation de l'appétit. Au moins une partie de ces effets peuvent être le résultat de l'inhibition du GABA, un neuromédiateur cérébral inhibiteur.

Les doses de glucocorticoïdes qui surpassent des doses anti-inflammatoires et immunosuppressives sont capables de réduire certains types d'œdème encéphalo-rachidien. Les glucocorticoïdes sont particulièrement efficaces dans la réduction de l'œdème cérébral interstitiel comme celui de l'hydrocéphalie ou celui causé par les néoplasies intracrâniennes. L'effet bénéfique des glucocorticoïdes lors du trauma à la tête ou d'œdème cytotoxique est controversé (Chastain C.B., 1993).

La méthylprednisolone a la capacité d'inhiber la peroxydation des membranes cellulaires de la moelle épinière avec des effets bénéfiques tels que la prévention de l'hypoperfusion, la préservation tissulaire, et la récupération de la fonction neurologique après un dommage tissulaire. Un effet antioxydant semblable a été observé dans le cerveau. Par contre, la prednisolone est signalée comme le corticoïde le plus efficace dans l'inhibition de la peroxydation lipidique dans le cerveau des rats (Hall E.D., Braugher J.M., 1989).

P.J. Luthert et J. Greenwood (1989) soutiennent que les troubles de la barrière hémato-encéphalique sont à l'origine de nombreux états pathologiques et que les corticoïdes sont clairement capables de réduire l'œdème qui y est associé dans plusieurs circonstances.

6.2.2. Les glucocorticoïdes et le système immunitaire

La thérapie avec des corticoïdes produit une neutrophilie. Par contre des doses de GC supérieures aux doses nécessaires pour l'effet anti-inflammatoire sont immunosuppressives. Le rat, la souris, le hamster et le lapin sont beaucoup plus sensibles que le chien à ces effets. Les glucocorticoïdes ont une action inhibitrice sur la migration des neutrophiles, des macrophages et des monocytes ainsi que sur la réponse chimiotactique, la diapédèse, la phagocytose et la destruction intracellulaire. En présence de doses efficaces de glucocorticoïdes, la cascade du complément et la formation de médiateurs métaboliques de l'inflammation dérivés des phospholipides des membranes cellulaires (thromboxane, leucotriènes, prostacyclines et prostaglandines) sont également inhibées (Chastain C.B., 1993). La production de collagénase, un des médiateurs inflammatoires, se trouve sous le contrôle des corticoïdes et l'élévation du niveau sanguin de GC peut supprimer sa production (Flower R.J., 1989).

6.3. Effets défavorables des glucocorticoïdes

Malgré les effets bénéfiques, l'utilisation des GC doit être soigneusement évaluée. Il existe plusieurs effets indésirables associés aux traitements de longue durée. Par contre, dans la description qui suit, l'accent est mis sur les risques de l'utilisation aiguë à doses élevées.

L'hémorragie gastro-intestinale est l'une des conséquences défavorables de l'utilisation de glucocorticoïdes la plus souvent observée (Chastain C.B., 1993). Lorsqu'ils ont été traités à la dose recommandée pour traiter l'œdème de la moelle épinière, 15 % des animaux ont souffert d'hémorragies gastro-intestinales et 2 % sont décédés à la suite d'une perforation du côlon (McDonald R.K., Langston V.C., 1998). Les ulcères gastriques sont aussi possibles puisque les corticoïdes augmentent les niveaux de gastrine et la sécrétion d'acide chlorhydrique et de pepsine tout en réduisant la viscosité du mucus et la prolifération de cellules à mucus. L'hyperglycémie et le diabète ont été mentionnés par de nombreux auteurs comme des complications de l'utilisation de glucocorticoïdes à des doses élevées, autant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire (Beks J.W.F. et al., 1972; Candelise L. et al., 1985; Chastain C.B., 1993; Gudeman S.K. et al., 1979; McDonald R.K., Langston V.C., 1998; Pongvarin N. et al., 1987; Scott D.W., 1985).

Plusieurs études expérimentales ont démontré que l'hyperglycémie cause une aggravation des lésions cérébrales ischémiques (Hamilton M.G. et al., 1988; Voll C.L., Auer R.N., 1988; Gisselsson L. et al., 1999).

L'aggravation d'une insuffisance rénale est souvent observée à la suite du traitement d'animaux avec des doses importantes de glucocorticoïdes, tout comme le retard de la cicatrisation des plaies (Chastain C.B., 1993), l'immunosuppression et une prédisposition à l'infection (McDonald R.K., Langston V.C., 1998). Finalement, l'augmentation de la viscosité des sécrétions pancréatiques provoquée par le traitement aux glucocorticoïdes à fortes doses peut causer ou exacerber une pancréatite aiguë (Chastain C.B., 1993).

6.4. Les glucocorticoïdes et le traitement de l'inflammation, de l'œdème et de l'hémorragie cérébrale

La thérapie aux corticoïdes a été utilisée pour la première fois pour le traitement de l'œdème cérébral chez les humains ayant des métastases cancéreuses au niveau cérébral (Kofman et al., 1957). Il s'agit de 22 patients qui avaient des métastases cérébrales après

une néoplasie mammaire primaire. Quatorze de ces patients ont montré une amélioration remarquable mais temporaire. Plus tard, J.H. Galich et al. (1961) ont établi un régime de traitement pour des métastases ou l'œdème cérébral post-chirurgical en utilisant de la dexaméthasone. Depuis ces expériences, les glucocorticoïdes ont été utilisés pour plusieurs maladies associées à l'œdème et à l'inflammation cérébrale. Néanmoins, il existe une importante controverse au sujet de l'emploi des glucocorticoïdes comme anti-inflammatoires du cerveau dans le cas d'un dommage traumatique ou de l'hémorragie spontanée ou consécutive à la rupture d'un anévrisme. Certains auteurs proposent la chirurgie dans tous les cas tandis que d'autres suggèrent des traitements médicaux suivis de chirurgie dans des cas spéciaux (Arana-Iñiguez R. et al., 1976; Cotran R.S., 1999; Lazorthes G., 1959; Luessenhop A.J., 1967; McKissock W. et al., 1959).

6.4.1. L'évidence expérimentale à l'aide des modèles animaux

Plusieurs chercheurs se sont servi des modèles expérimentaux pour démontrer l'utilité des glucocorticoïdes dans le traitement de l'inflammation, de l'œdème et de l'hémorragie cérébrale.

S. Holmin et T. Mathiesen (1996) ont trouvé que la dexaméthasone, à une dose de 1 mg/kg toutes les 24 h pendant 5 jours réduisait l'infiltration de cellules inflammatoires et l'œdème à la suite d'une contusion expérimentale chez la souris.

E.D. Hall (1985) à l'aide d'un modèle de trauma expérimental chez la souris, montre aussi l'effet bénéfique sur la récupération fonctionnelle neurologique des animaux ayant reçu des doses de 30 mg/kg de méthylprednisolone et 60 mg/kg de prednisolone.

G. Meining et K. Deisenroth (1990) se sont servi d'un modèle chez le rat pour déterminer qu'une dose de 1.5 à 7.5 mg/kg de dexaméthasone produisait une réduction de l'œdème après une lésion corticale par le froid.

A.P. Slivka et E.J. Murphy (2001) ont évalué une dose de 105 mg/kg de méthylprednisolone en concluant qu'elle était capable de réduire le volume d'un infarctus expérimental chez le rat.

Récemment, P. Vachon et J.P. Moreau (2003) ont utilisé le modèle expérimental d'injection intracérébrale de collagénase chez le rat. Ils ont mesuré une réduction significative de l'œdème cérébral post-hémorragie chez des rats ayant reçu 1 mg/kg de dexaméthasone.

6.4.2. Les études cliniques

G. Faupel et al. (1976), Gobiet W. et al. (1976), rapportent que l'utilisation des corticoïdes à doses élevées réduit de façon significative la mortalité et améliore les performances neurologiques des patients ayant subi un trauma sévère de la tête.

N.M. Dearden et al. (1986), pour leur part, concluent que les glucocorticoïdes à doses élevées ne fournissent aucun bénéfice et qu'en plus, pourraient être contre-indiqués lors de pression intracrânienne élevée.

En l'absence d'un avantage démontrable, l'utilisation de la dexaméthasone doit être reconsidérée dû à ses effets secondaires indésirables, selon N. Pongvarin et ses collègues (1987).

Une étude a évalué les résultats de l'administration d'une dose de 100 mg de dexaméthasone à des patients comateux dans les 6 h suivant un trauma sévère de la tête sans trouver de différence de survie des patients après un mois (Braakman R. et al., 1983).

Donc, les études cliniques ne permettent pas d'arriver à une conclusion sur l'efficacité des glucocorticoïdes pour le trauma crânien.

6.5. Les indications en médecine vétérinaire

Étant donné qu'une partie importante des références à la base des procédures thérapeutiques dans la pratique vétérinaire provient de la médecine humaine, il n'est pas surprenant que la controverse au sujet de l'utilisation des glucocorticoïdes lors de dommage intracrânien soit similaire. Des auteurs remarquent que malgré son emploi traditionnel dans le traitement du trauma du SNC, il n'y a que très peu d'évidence à l'appui de l'utilisation des glucocorticoïdes dans le cas de dommage sévère à la tête (Dewey C.W. et al., 1992; Proulx J., Dhupa N., 1998). Ces auteurs suggèrent que les doses normalement administrées de dexaméthasone et de prednisolone sont probablement inefficaces. Par contre, plus de données supportent l'utilisation de doses élevées de méthylprednisolone, qui devraient s'ajouter au traitement de patients qui ne répondent pas de façon adéquate à la fluidothérapie et à l'oxygénothérapie (Dewey C.W., 2000).

D'autre part, L. Shell (1998) fait mention des glucocorticoïdes comme un des trois traitements de base contre l'œdème cérébral en compagnie des diurétiques osmotiques et de l'hyperventilation. Pourtant, la controverse persiste au sujet de leur emploi dans le cas de

DROGUE	DOSE et VOIE RECOMMANDÉES	INDICATIONS	AUTEURS
Dexaméthasone	2 mg/kg/IV	Oedème cérébral inflammation trauma	Oliver J.E. Jr., 1985
Dexaméthasone	2-4 mg/kg/IV toutes les 6 à 8 h.	Oedème cérébral hémorragie trauma	De Lahunta A., 1983
Dexaméthasone	0,5-2 mg/kg/IV toutes les 6-8 h	Oedème cérébral Inflammation	Chrisman C.L., 1991
Dexaméthasone	2-4 mg/kg/IV toutes les 6-8 h	Oedème cérébral trauma	Greene, C.E., Braund K.G., 1993
Dexaméthasone	4-6 mg/kg/IV toutes les 8 h	Oedème dommage cérébral	De Lahunta A., 1994
Dexaméthasone	2 mg/kg IV en répétant aux 4 à 6 h Ensuite 0.25 mg/kg toutes les 8 à 12 h	Oedème inflammation cérébrale traumatique	Oliver J.E., Lorenz M.D., 1993
Dexaméthasone	2 mg/kg au 8 h	Oedème cérébral	Chastain C.B., 1993
Méthyl- prednisolone	30 mg/kg (bolus) + 5 mg/kg/h (au goutte à goutte) pendant 24 h.	Oedème cérébral inflammation trauma	Oliver J.E., Lorenz M.P., Kornagay J.N., 1993
Méthyl- prednisolone	12-15 mg/kg	Oedème cérébral	Chastain C.B., 1993
Méthyl- prednisolone	30 mg/kg/IV ensuite 15 mg/kg aux 2 et 6 h	Trauma cérébral	Dewey C.W., 2000
Méthyl- prednisolone	30 mg/kg/IV	Trauma cérébral Hypoxie	Chrisman C.L., 1991

Tableau 1: Recommandations thérapeutiques pour la dexaméthasone et la méthylprednisolone dans la littérature vétérinaire (animaux de compagnie).

trauma encéphalique, puisque les glucocorticoïdes pourraient être contre-indiqués en présence d'hémorragie cérébrale (Fenner W.R., 1998; McDonald R.K., Langston V.C., 1998; Shell L., 1998). Par contre, en présence d'ischémie, de thrombose et d'hémorragie, les corticoïdes sont suggérés par certains auteurs comme faisant partie des traitements visant la réduction de l'oedème (Fenner W.R., 1998; Neer T.M., 1997). Le tableau 1 présente l'étonnante variété de doses et de régimes d'administration suggérés pour l'utilisation de la dexaméthasone et la méthylprednisolone dans le cas d'oedème et d'inflammation aiguë du SNC.

8. OBJECTIF

L'hémorragie cérébrale spontanée ou associée au dommage traumatique primaire demeure un des problèmes médicaux cruciaux par son impact social et économique. Les conditions actuelles environnementales et épidémiologiques ont transformé l'hémorragie cérébrale en un problème très grave, d'envergure mondiale, qui atteint de manière significative les personnes de presque tous les âges et également la population croissante d'animaux de compagnie. Les traitements sont controversés et leurs résultats insatisfaisants. Cette condition mérite alors d'être investiguée comme sujet de recherche fondamentale et clinique. Qu'elle soit associée au dommage traumatique primaire, qu'elle soit spontanée, l'hémorragie cérébrale continue d'être un des défis les plus importants pour les chercheurs et les cliniciens.

Notre objectif est donc, d'évaluer l'efficacité de la dexaméthasone et la méthylprednisolone pour le traitement de l'hémorragie cérébrale, afin d'apporter plus d'information expérimentale justifiant ou non sur l'utilisation des corticoïdes comme thérapie pour cette condition. Nous utiliserons le modèle d'injection sous-corticale de collagénase chez le rat afin de produire un hématome dans la région du caudoputamen droit. Nous avons choisi la dexaméthasone et la méthylprednisolone sur la base de leur très grande utilisation comme anti-inflammatoires du système nerveux en médecine vétérinaire. Nous proposons d'évaluer ces glucocorticoïdes par leur capacité de réduire les déficits moteurs fonctionnels ainsi que le volume de l'hématome et l'œdème associé à l'hémorragie cérébrale tout en considérant les conséquences du traitement sur l'aspect histopathologique de la lésion.

MATÉRIEL, MÉTHODES ET RÉSULTATS

PREMIER ARTICLE

Evaluation of dexamethasone for the treatment of intracerebral hemorrhage using a collagenase-induced intracerebral hematoma model in rats

Pablo Patricio Lema ^a, Christiane Girard ^b, Pascal Vachon ^{a*}

Faculty of Veterinary Medicine, Departments of Veterinary Biomedicine ^a and Microbiology and Pathology ^b, University of Montreal, St-Hyacinthe, QC, Canada.

Short running title: Dexamethasone and intracerebral hemorrhage

Corresponding author:

* Pascal Vachon Ph.D., D.V.M., Diplomate ACLAM

Faculté de Médecine Vétérinaire

Département de Biomédecine Vétérinaire

C.P. 5000

St-Hyacinthe QC Canada

J2S 7C6

Phone: (450) 773-8521ext. 8294

Fax: (450) 778-8109

E-mail: [REDACTED]

ABSTRACT

Dexamethasone was evaluated for the treatment of intracerebral hemorrhage using a rat model of cerebral hematoma induced by intracerebral injection of collagenase. The treatment group consisted of hematoma rats receiving dexamethasone 1 mg/kg intraperitoneal (IP) at 1 and 24 h following surgery. Controls included hematoma rats receiving saline IP and sham operated animals receiving saline IP. Each animal was evaluated neurologically prior to, as well as 24 h and 48 h following surgery. After the last neurological evaluation, animals were deeply anesthetized and the brain was removed following perfusion for microscopic examination and GFAP immunohistochemistry. Behavioral scores were significantly improved in the treated group ($p < 0.0001$). The hematoma volume was significantly smaller ($p < 0.02$). Neutrophils and astrocytes were less numerous in the hematoma of dexamethasone treated animals ($p < 0.001$), however the number of necrotic neurons in the penumbra was not changed by the treatment. The number of necrotic neurons in the cerebral cortex was less in treated than in non-treated animals ($p < 0.01$). Controls had many vascular changes including necrotic endothelium and fibrin deposits compared to treated animals. In conclusion, dexamethasone administered shortly after an intracerebral hematoma appears beneficial for the treatment of this condition.

Keywords: intracerebral hemorrhage/ hematoma/ dexamethasone/ collagenase/ rat

INTRODUCTION

Cerebral hemorrhage, subsequent to traumatic brain injury, is a cause of disability and death in companion animals, and is caused mainly by automobile accidents and falls. Recently, nuclear magnetic resonance has shown that dogs may suffer from stroke and cerebrovascular accidents leading to brain hemorrhage (Platt & Garosi, 2003). In these cases, edema has been shown to persist up to 5 days, and neuronal death is predominantly necrotic, although recent evidence suggests that apoptosis is a contributing factor (Qureshi et al., 2001). Areas of vulnerability for the intracerebral hemorrhage within the brain are the cerebral cortex, the hippocampus, the amygdala, the thalamus and the cerebellar Purkinje cells (Summer et al., 1995). Intraparenchymal hemorrhage associated with systemic hypertension and degeneration of cerebral arteries is also known to occur (Castle & Kissel, 1990). Primary or secondary hypertension in dogs predisposing to intracranial hemorrhage (Dukes 1992) and atherosclerosis, causing damage to blood vessels and consequently hemorrhaging, is known to occur with hypothyroidism as well as idiopathic hyperlipoproteinemia (Thomas 1996). Other diseases such as sepsis, coagulopathy, neoplasia and heart worm disease are also associated with cerebral infarction in dogs (Platt & Garosi, 2003). Therefore, many pathological conditions are associated with cerebrovascular disease in dogs, however trauma and hypertension seem to be more important etiological factors leading to this condition.

Few studies have been devoted to understand the pathogenesis and treatment of intracerebral hemorrhage. Different animal models have been used to study traumatic brain injury, however few have shown to be reliable and reproducible. Recent publications have shown that the collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats is a highly reproducible model that may be used to study the pathophysiology of intracranial hematoma and associated cerebral edema (Chesney et al., 1995; Del Bigio et al., 1996; Rosenberg et al., 1990). Locomotor deficits have been shown to correlate with the size of the lesion evaluated histologically (Chesney et al., 1995). Nuclear magnetic imaging of the hemorrhagic area has been shown to correlate with behavioral and histological changes (Del Bigio et al., 1996). It has been suggested that the basal lamina of brain blood vessels containing collagen (Alcolado et al., 1988; McArdle et al., 1984; Sapsford et al., 1983) is affected from the release of collagenase by mononuclear and neutrophil cells during inflammation (Epstein, 1989; Harris & Krane, 1974; Janoff & Zeligs, 1968; Liotta, 1980;

Weiss et al., 1989) and may also be affected by the activation of an intrinsic procollagenase present in blood vessels (Montfort & Pérez-Tamayo, 1975). Consequently collagenase may be an intrinsic molecule responsible, at least in part, for the edema and hemorrhage observed with cerebral trauma. Therefore the collagenase-induced hematoma model seems appropriate to evaluate different therapeutic approaches to assess treatments for the alleviation of neurological deficits following intracerebral hemorrhage.

Low doses of dexamethasone have been used to reduce cerebral edema associated with trauma (Oliver & Lorenz 1993; Holmin & Mathiesen, 1996) and are used preferentially to high doses of steroid anti-inflammatory drugs to minimise the negative side effects. However controversy still remains in the literature regarding treatment of brain edema with dexamethasone after severe head injury. Some authors (Braakman et al., 1983; Dearden et al., 1986) have suggested that high doses of dexamethasone do not have any beneficial effects in treating severe head injury while others suggest that they improve the clinical outcome without deleterious effects (Hall, 1985; Mainig & Deisenroth, 1990). High concentrations of potassium at the site of hematoma formation are associated with high doses of dexamethasone, and may lead to neuronal degeneration (Mainig & Deisenroth, 1990). It would therefore seem logical to first evaluate low doses of dexamethasone for the treatment of cerebral hemorrhage. Using the collagenase-induced cerebral hematoma rat model, we found that a dose of 1 mg/kg of dexamethasone 1 h and 24 h following surgical procedures reduced cerebral brain water content whereas higher doses (5 and 35 mg/kg) had no beneficial effect (Vachon & Moreau, 2003). These results suggested that dexamethasone treatment could be used following head trauma in order to reduce edema during the critical post-traumatic phase.

The objective of the present study was to evaluate behavioral and histopathological changes associated with dexamethasone treatment of intracerebral hematoma at a dose of 1 mg/kg using a collagenase-induced hematoma model.

MATERIALS AND METHODS

Animals

Eighteen male Sprague-Dawley rats (3 groups of 6 animals) of approximately 225-250g body weight (Charles River, St-Constant, Qc, Canada) were used in this study. All rats were specific pathogen free originating from a barrier facility. Following their arrival, they were kept in a standard laboratory animal environment (fresh filtered air: 15 changes/h, temperature: $21 \pm 3^{\circ}\text{C}$, humidity: 40-60% and light-dark cycle: 12:12 h). They were housed in pairs in polycarbonate cages (Ancare, Bellmore, NY, U.S.A.) on hardwood bedding (Beta chip, Northeastern Products Co., Warrenburg, NY, USA) and acclimated for at least 3 days prior to the initiation of the study. Rats received tap water and laboratory rat diet (Charles River Rodent chow (5075), St-Constant, QC, Canada) ad libitum. The experimental protocol was approved by the Institutional Animal Care and Use Committee prior to animal use and is in accordance with the guidelines of the Canadian Council on Animal Care (1993).

Surgical procedures

Following anesthesia with pentobarbital at 60 mg/kg IP (MTC Pharmaceuticals, Cambridge, ON, Canada), rats were placed in a stereotaxic instrument (David Kopf Instruments, Tujunga, Ca) and the surgery was performed under aseptic conditions. Following hair clipping and disinfection of the cranium skin, EMLA cream (AstraZeneca, Mississauga, ON, Canada) was applied prior to incision. A sagittal skin incision was performed and a burr hole (1.5 mm diameter) was made in the bone at the following stereotaxic coordinates: antero-posterior 0.0 mm and lateral 3.0 mm, in reference to bregma, so that the injection site would be in the caudoputamen nuclei (Paxinos & Watson, 1998). To produce the hematoma, a collagenase solution composed of 0.5 U collagenase Type VII (Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canada) in 2 μL saline (Abbott Laboratories, St-Laurent, QC, Canada) was injected over a period of 10 min via the burr hole in the right cerebral hemisphere, 5 mm below the dura with a 5 μL Hamilton syringe. The needle was removed 5 min following the end of the injection and the skin was sutured (silk 4.0). Rectal temperature was monitored during surgery (Thermalert TH-8, Physitemp, Clifton, NJ) and was maintained within normal limits ($36.5\text{-}37.5^{\circ}\text{C}$) throughout the surgery by keeping animals on an electrical heating pad. Following surgery, animals were maintained

under a heating lamp until recovery. No analgesics were administered following the surgery since their anti-inflammatory properties may interfere with the interpretation of the results (Vachon & Moreau, 2002). Similar surgical procedures were followed for sham operated animals (negative controls) except that intracerebral injection consisted of saline only.

Treatments

The treatment group received 1 mg/kg of dexamethasone intraperitoneally (IP) in saline (5mL/kg) at 1 and 24 h following the intracerebral collagenase injection. Positive and negative controls received saline IP at a dose volume of 5 mL/kg at 1 and 24 h following the intracerebral injection.

Behavioral evaluations

A semi-quantitative neurological exam was used to evaluate the rats prior to and at 24 and 48 h following surgery. Tests were selected from previous publications (Del Bigio et al., 1996; Irwin, 1968; Oliver & Lorenz, 1993; Vachon et al., 1999). All animals were trained for 3 consecutive days prior to surgical procedures. The behavioral evaluation was composed of the following tests:

- a) activity: exploration of the immediate environment when the rat is placed on a novel hard surface (0: no exploration; 1: exploration with head movements only; 2: exploration of the immediate environment; 3: normal exploration)
- b) locomotion: the rat is placed on a hard surface and forward progression is observed (0: no displacement; 1: unilateral rotation only; 2: incomplete body movements on both side, forward progression mainly by rotation; 3: normal linear progression)
- c) positional passivity: during hand restraint, the affected posterior limb (left) is pulled away from the animal and the motor response is observed (0: no flexion of the limb; 1: flexure movements on occasions; 2: normal flexions upon each extension)
- d) visual positioning: the rat is held by the tail above a contact surface and displaced toward a hard surface and the visual positioning of both limbs is evaluated (1: contact with one limb only, other held in a flexed position; 2: partial flexure of the affected limb; 3: both limbs extended to make contact with normal walking movements)

- e) climbing: climbing on a wire grid while skill and symmetry of forelimbs are observed (1: holds wire but cannot let go; 2: tries to climb but has difficulty to do so, little forward movements with important asymmetry; 3: climbs but the movement is moderately asymmetrical; 4: normal climbing, symmetrical movements of both forearms are observed)
- f) tail rigidity: the tail is elevated at mid-length and rigidity is observed (1: no flexibility observed, if placed in a curved position remains as such; 2: moderate rigidity; 3: normal flexibility and movements)
- g) tremor: animal is held by the tail in an elevated position so that the front paws remain in contact with a hard surface, stability of hind paws is observed (1: tremor; 2: no tremor)
- h) hopping: the rat is held by hind legs and one forepaw so that the entire weight of the animal is supported by one limb. The animal is moved laterally and hopping movements are evaluated to assess postural adjustments (0: no postural adjustment; 1: delay of the initiation of movement to adjust posture of the affected limb (left) 2: normal postural adjustment)

Perfusion, histological procedures, immunohistochemistry and image analysis

Following the neurological assessment at 48 h post-intracerebral injection, animals were perfused through the heart under deep anesthesia (pentobarbital; 100 mg/kg, IP) first with a physiological dextrose-sucrose solution (200 mL/rat; solution composition (1L): 8g NaCl, 4 g dextrose, 8g sucrose, 0.23 g calcium chloride; all products were purchased from Sigma Inc. (St-Louis, Mo)) followed by a buffered 10 % formol (200mL/rat) solution (method derived from Neurosciences Associates Inc., Knoxville, TN, USA). For microscopic evaluation, brains were fixed in formol for 48 h, embedded in paraffin and 5 μ m sections were stained with hematoxylin and eosin. The hematoma volume was calculated by multiplying the hematoma surface by the distance between two consecutive (100 μ m) stained sections. In addition, the number of neutrophils in the hemorrhagic area and necrotic neurons area were evaluated. Because of the difficulty to select common histopathological characteristics of necrotic neurons, only cells that showed typical shrinkage were evaluated. The number of necrotic neurons was evaluated in the penumbral area of the hematoma as well as in the temporal cerebral cortex adjacent to the hematoma.

Selected sections were also stained with Mallory's phosphotungstic-hematoxylin acid stain (PTAH) for fibrin and Prussian blue for iron. To determine astrocyte reactivity, immunohistochemistry for glial fibrillary acidic protein (GFAP) was performed using polyclonal antibodies (immunoglobulin fraction of rabbit antisera diluted in phosphate buffered saline -pH 7.6- with 1% bovine serum albumin) (BioGenex Laboratories, San Ramon, CA, USA). Astrocytes were counted in the penumbral area of the hematoma. Hematoma volume evaluation and cell counts (average of 4 areas at 20x) were performed with an image analysis system (Simple PCI, Compix Inc. Imaging Systems, Cranberry Township, PA, USA). Semi-quantitative assessment was made for the changes in small blood vessels looking at endothelial degeneration and fibrin deposition around vessels. No lesion was observed in sham operated animals, except for very minor necrosis immediately surrounding the injection site, and therefore no histological result is reported for these animals.

Statistical analysis

Statistical significance level was set a priori at $p < 0.05$. Statistical analyses were performed using Statistica software (Statsoft Version 4.3, Tulsa, OK, USA) for simple t-tests applied to all histological results. Analysis of variance and post hoc Tukey tests were performed with SAS (Version 8.02, Cary, NC, USA) for behavioral evaluations.

RESULTS

Behavioral evaluations

The semi-quantitative neurological exam revealed a beneficial effect of treatment ($p < 0.0001$), an effect with time ($p < 0.0001$) and an interaction between time and treatment ($p < 0.0001$). Neurological scores varied significantly between groups (Tukey post-hoc) with the following order: positive controls < dexamethasone treatment < negative controls. Average neurological scores dropped from 100 prior to the intracerebral injections to 67 ± 10 at 24 h and to 53 ± 10 at 48 h following collagenase injection in animals that were treated IP with saline only. For the dexamethasone treatment group, scores dropped from 100 to 78 ± 8 at 24 h and to 70 ± 7 at 48 h following collagenase injection. Sham operated animals had scores of 100 prior and following surgical procedures (Figure 1).

Histological and immunohistochemistry results

Histological features of the hematoma at 48 h following the injection of collagenase have previously been described (Del Bigio et al., 1996; Rosenberg et al., 1990). We observed that the hematoma zone consisted of cellular debris, neutrophils, scattered clusters of erythrocytes and necrotic parenchyma (Figure 2). No macrophages were observed. Clear spaces within the nervous tissue, interpreted as edema, were localized surrounding the penumbral region as well as extending along the corpus callosum in the ipsilateral and contralateral hemispheres. The hematoma volume was significantly smaller in dexamethasone treated animals ($14.78 \pm 6.02 \text{ mm}^3$) than in non-treated animals ($25.4 \pm 5.82 \text{ mm}^3$) ($p < 0.02$). Using image analysis, differences in the number of cells were observed in selected populations. Neutrophil infiltrations were mainly located at the periphery of the lesion (Figure 3). They were much more numerous in the hematoma of non-treated animals (212 ± 57) than in treated animals (70 ± 22) ($p < 0.001$). The number of astrocytes and of necrotic neurons was evaluated in the penumbral area. Astrocytes were less numerous in treated (97 ± 22) than in non-treated animals (129 ± 16) ($p < 0.01$) whereas no significant difference was observed for necrotic neurons (90 ± 31 vs 87 ± 35). Astrocytic cells were reactive since they were clearly hypertrophic (Figure 4). Necrotic neurons had a wide set of appearances: some were seen as red cells (eosinophilic neurons) whereas other had pycnotic nuclei with or without vacuolation. Interestingly necrotic neurons in the cerebral cortex were less numerous in treated (18.1 ± 7.0) than in non-treated (29.2 ± 18.2) collagenase-treated animals ($p < 0.02$) suggesting that local

compression of microcirculation may play an important role in neuron survival, however no significant difference was seen with treatment. Other apparent changes, such as vascular alterations that could not be quantified were described qualitatively. Non-treated animals had more numerous vascular changes including cuffing, vasculitis and necrotic endothelium. Fibrin deposits surrounding blood vessels were observed in both treated and non-treated animals (Figure 5). Sections from all animals were negative with Prussian blue suggesting that no free iron was present in the hematoma at 48h.

DISCUSSION

Our results clearly suggest that dexamethasone can be used for the treatment of intracerebral hemorrhage assuming that the model applies to similar neurological problems in other domestic species. The collagenase model has been shown to mimic the histopathological changes seen in human intracerebral hemorrhage (Del Bigio et al 1996). Behavioral deficits were less severe in animals with an induced hematoma followed by dexamethasone treatment and many histopathological changes correlated with motor performances, such as the volume of the hematoma as well the number of neutrophils and astrocytes. Interestingly, the total scores of the neurological exam were lower at 48 h compared to 24 h evaluations in non-treated animals. Rosenberg et al. (1990) have shown that the cerebral water content attained a peak value 48 h following collagenase injections, suggesting that deterioration of motor capacities with time may be related to the increased edema and necrosis observed in cerebral tissue (Chesney et al., 1995; Del Bigio et al., 1996; Rosenberg et al., 1990). Since the motor behavioral abnormalities begin to resolve after 48 h (Rosenberg et al., 1990), the time period may be critical in evaluating the efficacy of treatment of cerebral trauma. Using whole body rotation evaluations and ipsilateral turning bias, Chesney et al. (1995) have shown that behavioral deficits following apomorphine injections were maintained throughout the 70 days of testing following intracerebral collagenase injections. Reduction of apomorphine-induced ipsilateral turning is considered to reflect the amelioration of rotational bias. The battery of behavioural tests used appears useful for evaluating the motor capacities of animals with induced-cerebral hematoma up to 48 h and may detect subtle changes in the motor behavior following intracerebral hemorrhage. It may therefore contribute to the evaluation of different treatments for the restoration of neurological function in the period immediately following an intracerebral hemorrhage.

An important finding of this study is that the hematoma volume of dexamethasone treated animals was 60% of the volume of non-treated animals. Although the number of necrotic neurons was not found to be different in the penumbral area, a reduced volume suggests that less brain tissue is affected and may explain better motor performance in treated animals. Terai et al. (2003) also found that large hematoma volumes (20 mm^3) were produced in rats with relatively large quantities of collagenase (0.35U). In dogs, a 7 cm^3 hematoma in a 25kg dog is considered a severe hematoma volume associated with

significant mortality (Broderick et al., 1993). On a per brain weight basis results from the present study (25 mm^3) would correspond to a 25 cm^3 hematoma in dogs. This could obviously cause a very important local compression of nervous and subsequent decreases local blood flow leading to ischemic neurons. Several animal studies (Bullock et al., 1988; Kingman et al., 1987; Mendelow et al., 1984; Nath et al., 1986; Nehls et al., 1988; Ropper & Zervas., 1982; Sinar et al., 1987; Yang et al., 1994) show that there is a reduction of blood flow in the regions of the brain surrounding the hematoma. Ropper & Zervas (1982) favor a vasoconstrictor mechanism to explain the ischemic periphery. Other studies present conflicting results (Qureshi et al., 1999; Wagner et al., 1996) as to the existence of an ischemic zone surrounding an intracerebral hematoma, however the speed of the hematoma induction as well as the final volume may explain these differences.

Neutrophils were more numerous in the hematoma of non-treated animals and these results would therefore support a role for these cells in the pathological process. Neutrophils have been associated with ischemic damage in the brain (Shiga et al., 1991; Matsuo et al., 1994a). A direct correlation has been established between neutrophil infiltration and ischemic brain injury (Matsuo et al., 1994a). To support this finding Matsuo et al. (1994b) have shown that enhancement of intercellular adhesion molecules, inducing endothelial adhesion and transmigration of neutrophils, occurs with ischemia and that antibodies against cell adhesion molecules reduce edema formation and infarct size. Therefore if dexamethasone reduces the number of infiltrated neutrophils, this may explain in part the decrease in edema (Vachon & Moreau, 2003) and of the infarct volume.

Erythrocytes were located mainly at the inner surface of the penumbral region. It has been suggested that some red blood cell constituents increase blood brain barrier permeability and contribute to cerebral edema (Xi et al., 2001) and that hemoglobin can activate lipid peroxidation and kill neurons (Gutteridge, 1987; Regan & Guo, 1998). Extravasated red blood cells have been shown to be responsible for the greater degree of neuron cell death and inflammation whereas activated leucocytes might exacerbate the injury (Xue & Del Bigio, 2000). Lysed red blood cells may therefore explain, at least in part, edema and neuron death. However, since no staining was noted with Prussian blue in selected slices at 48h, the toxicity appears to be related to hemoglobin and its by products without any direct contribution from iron which has been suggested as the toxic element derived from hemoglobin (Sadrzadeh et al., 1987).

GFAP positive astrocytes located in the penumbral area of the hematoma were more numerous in non-treated animals. They were also located in the corpus callosum and contralateral caudoputamen nucleus. The volume of the cells was clearly increased and therefore astrogliosis was prominent at 48h. Astrocytic swelling occurs in CNS diseases such as head trauma and hypoxia-ischemia and this occurs with increases in extracellular potassium, in intracellular calcium as well as with accumulation of excitatory neurotransmitters (Montgomery, 1994). Astrocytes are resistant to such deleterious effects and may protect neuronal necrosis by maintaining local homeostasis. Therefore a decrease in astrogliosis in dexamethasone treated animals may suggest that the local insult is less severe.

Animal models have played an important role in elucidating the cascade of morphologic and biochemical events occurring after a traumatic insult. No single animal model can reliably replicate the full spectrum of traumatic brain injury associated with edema and hemorrhage. Saline and protein infusions, standardized brain contusions, cold lesion-induced trauma, autologous whole blood injections, micro-balloon inflation trauma and impact and inertial acceleration are some models that are useful for the study of neuropathological processes in traumatic brain injury associated with edema and hemorrhage (Finnie & Blumbergs, 2002). All have some pitfalls in either poorly replicating traumatic mechanisms responsible for the production of hematoma or being poorly reproducible in terms of the size or the location of the lesion produced. Rosenberg et al. (1990) have recently described the collagenase-induced cerebral hematoma animal model. Since collagenases are proteolytic enzymes that are present within endothelial cells in an inactive form and that are secreted at sites of inflammation by mononuclear cells, they seem to be at least in part liable for damage in the traumatic process. The size of the hematoma has been shown to be reproducible between animals; this model may therefore be more reliable than other models to evaluate therapeutic strategies for the treatment of trauma in animals and humans.

Histopathological changes occurring with the collagenase-induced hematoma model have been well described (Del Bigio et al., 1996). Bleeding is seen 10 min after the infusion. By 45 min intact erythrocytes are seen between normal brain tissue and by 4 h there is extensive bleeding without evidence of tissue necrosis. By 24 h, the lesion consists in a central zone of necrotic tissue and erythrocytes and a peripheral zone with necrotic glial

and neuronal cells as well as few polymorphonuclear leukocytes. At 48 h, the peripheral zone has more important infiltrate of leukocytes. Therefore the first 48 h are important in the formation of the hematoma. The decision to treat with dexamethasone as early as 1 h following the collagenase injection was not to reproduce the clinical setting where an animal would be treated following head trauma but rather treat during the critical phase of the hematoma formation following the injection of collagenase. Vachon & Moreau (2002) have shown that a dose of 1 mg/kg of dexamethasone reduces brain water content in rat brains with a collagenase-induced hematoma. The behavioral and histopathological results of the present study support the use of dexamethasone for the treatment of intracerebral hemorrhage.

In conclusion, dexamethasone administered shortly after an intracerebral hematoma appears beneficial for the treatment of this condition. The anti-inflammatory and stabilizing membrane properties of glucocorticoids seem to imply a favourable influence of steroid therapy in cerebral injury. The behavioral improvement with dexamethasone associated with a smaller hematoma volume with less red blood cells and neutrophils, as well as a decreased edema, would support the anti-inflammatory and membrane stabilizing properties mechanisms.

REFERENCES

- Alcolado R., Weller R.O., Parrish E.P. & Garrod D.** (1988) The cranial arachnoid and pia matter in man: Anatomical and ultrastructural observations, *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 14, 1-17.
- Braakman R., Schouten H.J., Blaauw-van Dishoeck M. & Minderhoud J.M.** (1983) Megadose steroids in severe head injury. Results of a prospective double-blind clinical trial, *Journal of Neurosurgery*, 58, 326-330.
- Broderick J.P., Brott T.G., Duldner J.E., Tomsick T. & Huster G.** (1993) Volume of intracerebral hemorrhage. A powerful and easy-to-use predictor of 30-day mortality. *Stroke*, 24, 987-993.
- Bullock R., Brock-Utne J., van Dellen J. & Blake G.** (1988) Intracerebral hemorrhage in a primate model: effect on regional cerebral blood flow. *Surgical Neurology*, 29, 101-107.
- Canadian Council on Animal Care. Guide to the Care and Use of Experimental Animals. Ottawa, Ontario, Canada, 1993.
- Castle J.P. & Kissel P.** (1990). Spontaneous intracerebral and infratentorial hemorrhage. In *Neurological surgery*. pp. 1890-1917. Ed. Youmans J.R. Saunders W.B. Philadelphia.
- Chesney J.A., Kondoh T., Conrad J.A. & Low W.C.** (1995) Collagenase-induced intrastriatal hemorrhage in rats results in long-term locomotor deficits. *Stroke*, 26, 312-316.
- Dearden N.M., Gibson J.S., McDowall D.G., Gibson R.M. & Cameron M.M.** (1986) Effect of high-dose dexamethasone on outcome from severe head injury. *Journal of Neurosurgery*, 64, 81-88.
- Del Bigio M.R., Yan H.J. & Buist R., Peeling J.** (1996) Experimental intracerebral hemorrhage in rats. Magnetic resonance imaging and histopathological correlates. *Stroke*, 27, 2312-2319.

- Dukes J.** (1992) Hypertension: a review of the mechanisms, manifestations, and management. *Journal of Small Animal Practice*, 33, 119-129.
- Epstein F.H.** (1989) Tissue destruction by neutrophils. *New England Journal of Medicine*, 320, 365-375.
- Finnie J.W. & Blumbergs P.C.** (2002) Traumatic brain injury. *Veterinary Pathology*, 39, 670-689.
- Gutteridge J.M.** (1987) The antioxidant activity of haptoglobin toward haemoglobin-stimulated lipid peroxidation. *Biochimica Biophysica Acta*, 917, 219-223.
- Hall E.D.** (1985) High-dose glucocorticoid treatment improves neurological recovery in head-injured mice. *Journal of Neurosurgery*, 62, 882-887.
- Harris E.D. JR & Krane S.M.** (1974) Collagenases. *New England Journal of Medicine*, 291, 652-661.
- Holmin S. & Mathiesen T.** (1996) Dexamethasone and colchicine reduce inflammation and delayed oedema following experimental brain contusion. *Acta Neurochirurgica*, 138, 418-424.
- Irwin S.** (1968) Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologia*, 13, 222-257.
- Janoff A. & Zeligs J.D.** (1968) Vascular injury and lysis of basement membrane in vitro by neutral protease of human leukocytes. *Science*, 161, 702-704.
- Kingman T.A., Mendelow A.D., Graham D.I. & Teasdale G.M.** (1968) Experimental intracerebral mass: time-related effects on local cerebral blood flow. *Journal of Neurosurgery*, 67, 732-738.

Liotta L.A., Tryggvason K., Garbisa S., Hart I., Foltz C.M. & Shafie S. (1980) Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature*, 284, 67-68.

Mainig G. & Deisenroth K. (1990) Dose-response relation for dexamethasone in cold lesion-induced brain edema in rats. *Advances in Neurology*, 52, 295-300.

Matsuo Y., Onodera H., Shiga Y., Nakamura M., Ninomiya M., Kihara T. & Kogure K. (1994) Correlation between myeloperoxidase-quantified neutrophil accumulation and ischemic brain injury in the rat. Effects of neutrophil depletion. *Stroke*, 7, 1469-1475.

Matsuo Y., Onodera H., Shiga Y., Shozuhara H., Ninomiya M., Kihara T., Timatani T., Miyasaka M. & Kogure K. (1994) Role of cell adhesion molecules in brain injury after transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *Brain Research*, 656, 344-352.

McArdle J.P., Muller H.K., Roff B.T. & Murphy W.H. (1984) Basal laminal redevelopment in tumours metastatic to brain: An immuno-peroxidase study using an antibody to Type IV collagen. *Internal Journal of Cancer*, 34, 633-638.

Mendelow A.D., Bullock R., Teasdale G.M., Graham D.I. & McCulloch J. (1984) Intracranial hemorrhage induced at arterial pressure in rats. Part 2: Short term changes in local cerebral blood flow measured by autoradiography. *Neurological Research*, 6, 189-193.

Montfort I. & Pérez-Tamayo R. (1975) The distribution of collagenase in normal rat tissues, *J. Histochem. Cytochem.* 23, 910-920.

Montgomery D.L. (1994) Astrocytes: form, functions and roles in disease. *Veterinary Pathology*, 31, 145-167.

Nath F.P., Jenkins A., Mendelow A.D., Graham D.I. & Teasdale G.M. (1986) Early hemodynamic changes in experimental cerebral hemorrhage. *Journal of Neurosurgery*, 65, 697-703.

Nehls D.G., Mendelow A.D., Graham D.I., Sinar E.J. & Teasdale G.M. (1988) Experimental intracerebral hemorrhage: progression of hemodynamic changes after production of a spontaneous mass lesion. *Neurosurgery*, 23, 439-444.

Oliver J.E. & Lorenz M.D. (1993). *Handbook of veterinary neurology*. Saunders W.B., Philadelphia.

Paxinos G.T. & Watson C. (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 4th Ed. Academic Press. San Diego.

Platt S.R. & Garosi L. (2003) Canine cerebrovascular disease: Do dogs have stokes?. *Journal of American Veterinary Hospital Association*, 39, 337-342.

Qureshi A.I., Tuhim S., Broderick J.P., Badjer H.H., Hondo H. & Hanley D.F. (2001) Spontaneous intracerebral hemorrhage. *New England Journal of Medicine*, 344, 1450-1460.

Qureshi A.I., Wilson D.A., Hanley D.F. & Traysman R.J. (2001) No evidence from an ischemic penumbra in massive experimental intracerebral hemorrhage. *Neurology*, 52, 266-276.

Regan R.F. & Guo Y. (1998) Toxic effect of hemoglobin on spinal cord neurons in culture. *Journal of Neurotrauma*, 15, 645-653.

Ropper A.H. & Zervas N.T. (1982) Cerebral blood flow after experimental basal ganglia hemorrhage. *Annals of Neurology*, 11, 266-271.

Rosenberg G.A., Mun-Bryce S., Wesley M. & Kornfeld M. (1990) Collagenase-induced cerebral hemorrhage in rats. *Stroke*, 21, 801-807.

Sadrzadeh S.M.H., Anderson D.K., Panter S.S., Hallaway P.E. & Eaton J.W. (1987) Hemoglobin potentiates central nervous system damage. *Journal of Clinical Investigation*, 79, 662-664.

Sapsford I., Buontempo J. & Weller R.O. (1983) Basement membrane surfaces and perivascular compartments in normal human tumors: A scanning electron microscope study. *Neuropathology Applied Neurobiology*, 9, 181-194.

Shiga Y., Onodera H., Kogure K., Yamasaki Y., Yashima Y., Syozuhara H. & Sendo F. (1991) Neutrophil as a mediator of ischemic edema formation in the brain. *Neuroscience Letters*, 125, 110-112.

Sinar E.J., Mendelow A.D., Graham D.I. & Teasdale G.M. (1987) Experimental intracerebral hemorrhage: Effects of a temporary mass lesion. *Journal of Neurosurgery*, 66, 568-576.

Summer B.A., Cummings J.F. & De Lahunta A. (1995). *Veterinary neuropathology*. Mosby, St-Louis. p.208-350.

Terai K., Suzuki M., Sasamata M. & Miyata K. (2003) Amount of bleeding and hematoma size in the collagenase-induced intracerebral hemorrhagic rat model. *Neurochemical Research*, 28, 779-785.

Thomas W.B. (1996) Cerebrovascular disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 26, 925-943.

Vachon P. & Moreau J.P. (2003) Low doses of dexamethasone decrease cerebral brain water content of collagenase induced cerebral hematoma. *Canadian Journal Veterinary Research*, 67, 157-159.

Vachon P., Ste-Marie L. & Montgomery J. (1999) Utilisation de tests comportementaux pour prédire l'étendue de l'ischémie cérébrale induite par la cautérisation de l'artère cérébrale moyenne. *Sciences et Techniques des Animaux de Laboratoire*, 24, 171-177.

Wagner K.R., Xi G., Hua Y., Kellinholz M., De Courten-Myers G.M., Myers R.E., Broderick J.P. & Brott T.G. (1996) Lobar intracerebral hemorrhage model in pigs: Rapid edema development in perihematomal white matter. *Stroke*, 27, 490-497.

Weiss S.J. (1989) Tissue destruction by neutrophils. *New England Journal of Medicine*, 320, 365-376.

Xi G., Hua Y., Bhasin R.R., Ennis S.R., Keep R.F. & Hoff J.T. (2001) Mechanisms of edema formation after intracerebral hemorrhage. *Stroke*, 32, 2932-2946.

Xue M., Del Bigio M.R. (2000) Intracortical hemorrhage injury in rats. *Stroke*, 31, 1721-1731.

Yang G.Y., Betz A.L., Chenevert T.L., Brunberg J.A. & Hoff J.T. (1994) Experimental intracerebral hemorrhage: relationship between brain edema, blood flow, and blood-brain barrier permeability in rats. *Journal of Neurosurgery*, 81, 93-102.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Fond du Centenaire de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal. We wish to thank M. Guy Beauchamp for the statistical analyses and Dr David Silverside for the use of the Compix image analysis system.

LEGEND TO FIGURES

Figure 1. Histogram representation of mean behavioral scores (%) (\pm SD; brackets) prior to (24h) and following treatment (24 and 48 h) in animals that received intracerebral saline (negative control group (black bars)) and in animals that received intracerebral collagenase with treatment group (dark gray bars) and without (positive control group (light gray bars) dexamethasone treatment (1 mg/kg). Post-hoc Tukey tests shows no significant difference between positive controls and dexamethasone treated animals at 24 h post-treatment whereas at 48 h the behavioral scores are significantly different (* $p < 0.01$)

Figure 2. Coronal section (5 μ m) of a rat brain showing the hematoma produced in the right cerebral hemisphere following the injection of collagenase Type VII (0.5 U) in saline (2 μ L). Full line shows the inner contour of the penumbral area. Hematoxylin and eosin preparation.

Figure 3. Two representative photomicrographs from untreated (A) and dexamethasone treated (B) animals showing the difference in the number of neutrophils in the hematoma area (200 X).

Figure 4. Photomicrograph showing reactive astrocytes in the penumbral area of the brain from a positive control animal. (GFAP immunohistochemistry) (200X).

Figure 5. Necrosis of a small blood vessel from the hematoma area of a non-treated animal. Note the important fibrin deposition around the vessel. PTAH staining (200X).

FIGURES

Figure 1.

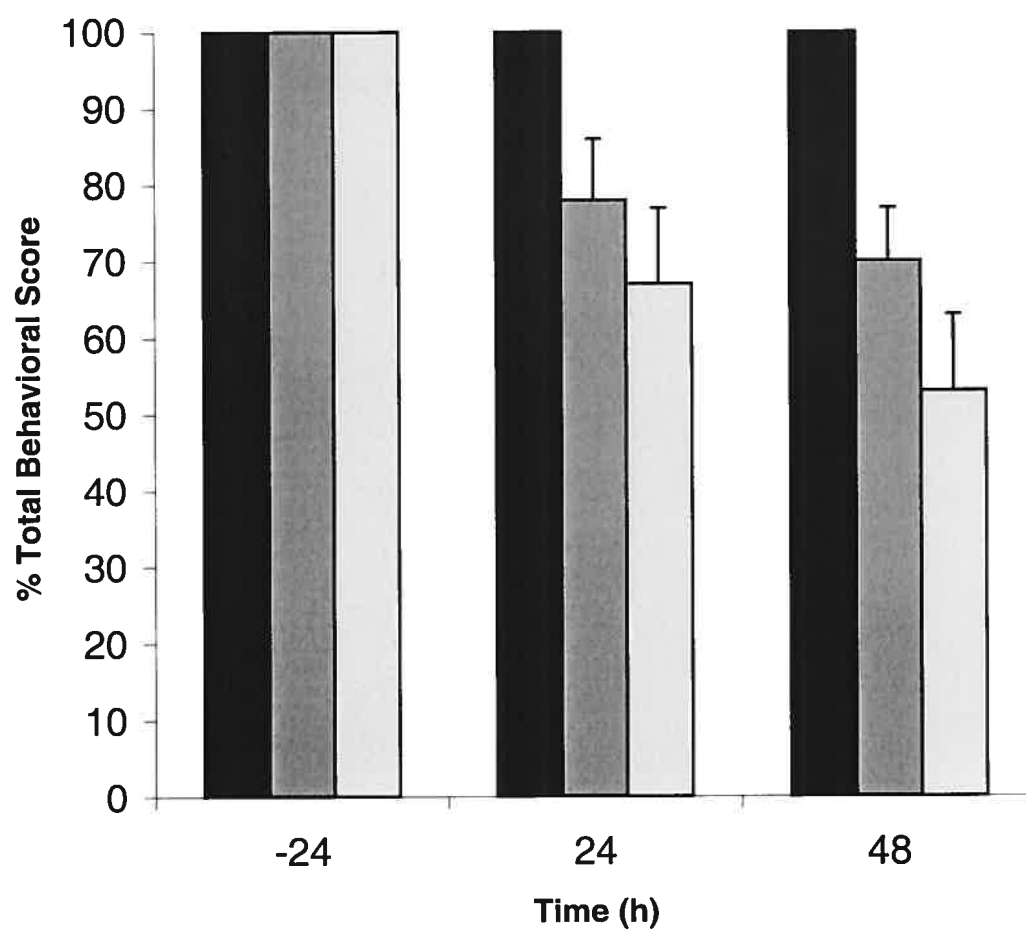


Figure 2.

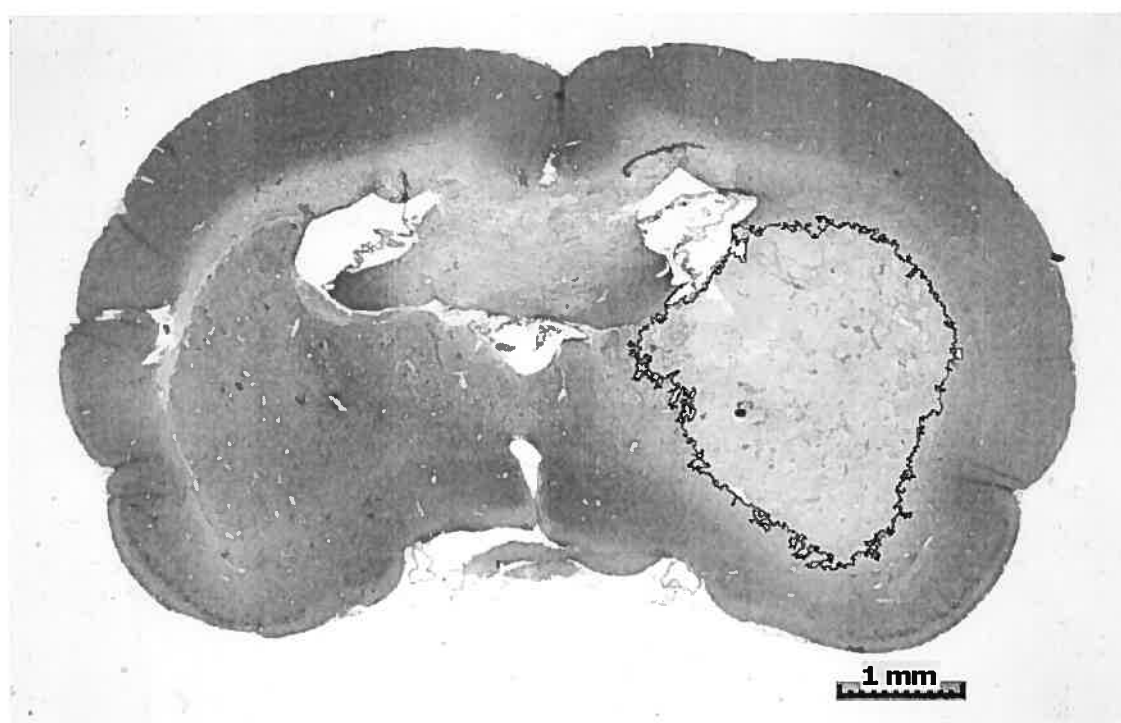


Figure 3.

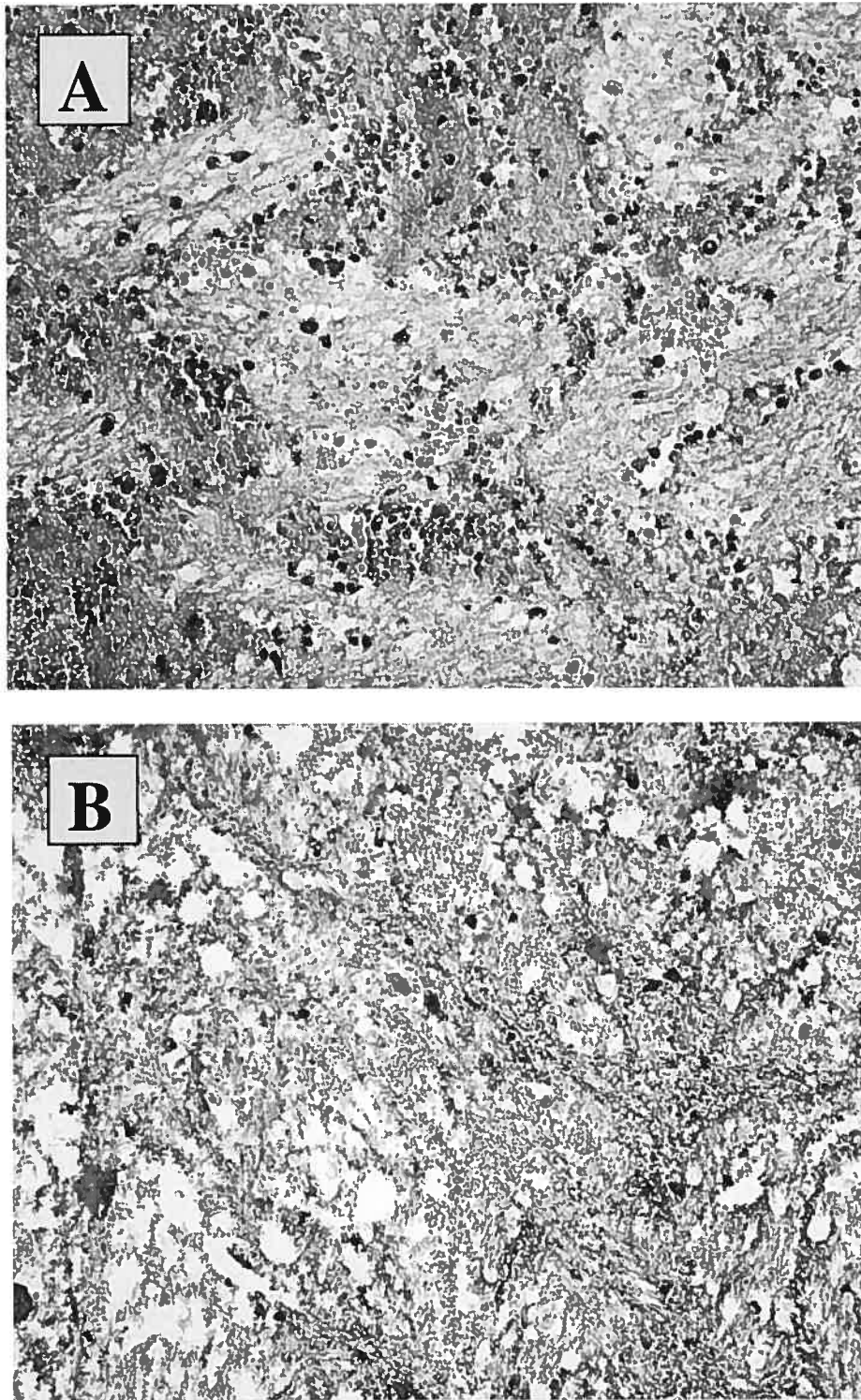


Figure 4.

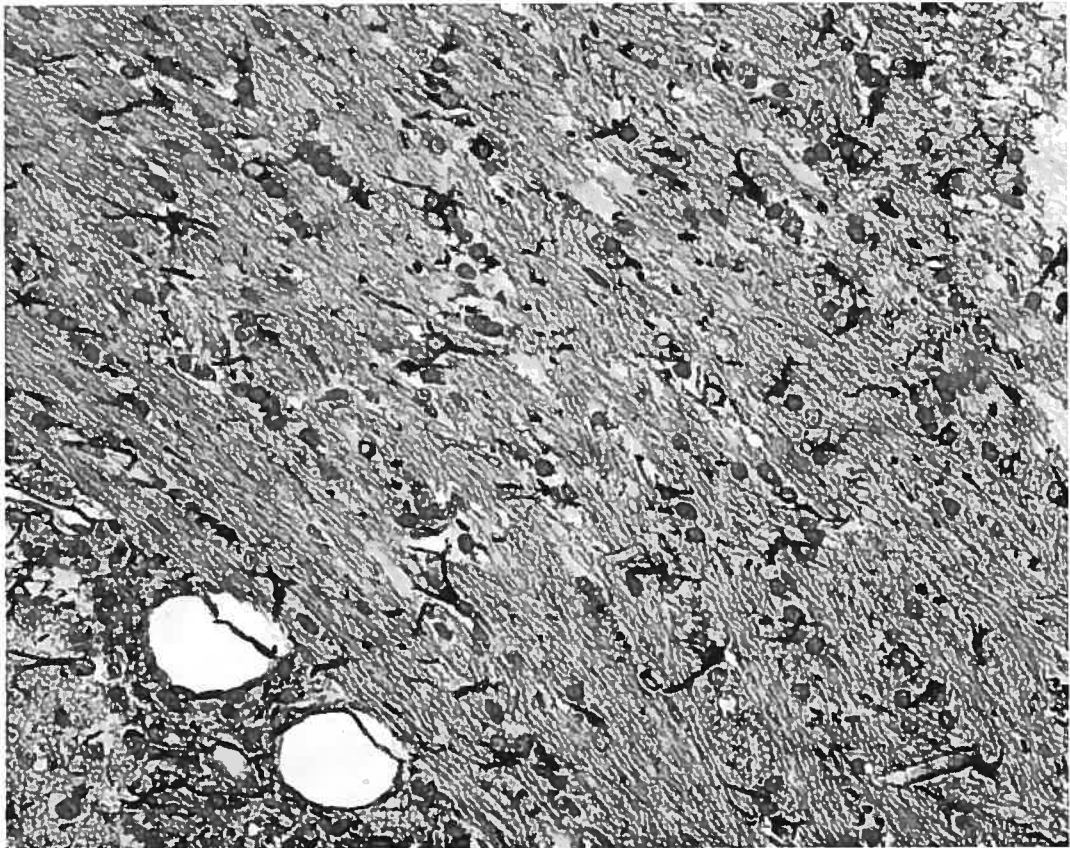
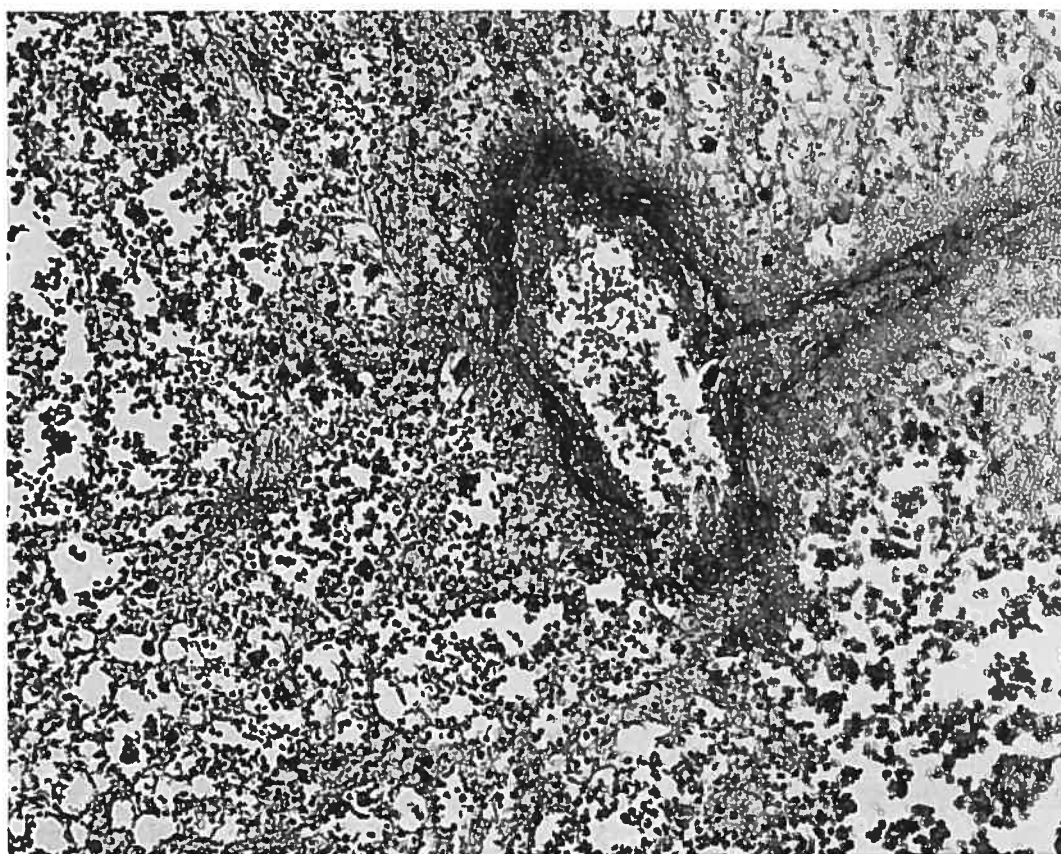


Figure 5.



DEUXIÈME ARTICLE

Evaluation of methylprednisolone for the treatment of intracerebral hemorrhage using an experimental model in the rat

Pablo P. Lema DMV, Christiane Girard DMV, DACVP, and Pascal Vachon PhD, DMV, DACLAM

Faculty of Veterinary Medicine, Departments of Veterinary Biomedicine and Microbiology & Pathology, University of Montreal, St-Hyacinthe, QC, Canada.

Corresponding author:

Pascal Vachon Ph.D., D.V.M., DACLAM

Faculté de Médecine Vétérinaire, Département de Biomédecine Vétérinaire

C.P. 5000, St-Hyacinthe QC Canada

J2S 7C6

Phone: (450) 773-8521ext. 8294

Fax: (450) 778-8109

E-mail: [REDACTED]

ABSTRACT

Objective – Evaluate methylprednisolone (MP) for the treatment of intracerebral hemorrhage using a rat model of cerebral hematoma induced by subcortical injection of collagenase.

Animals- Sixty male Sprague-Dawley rats.

Procedures - Methylprednisolone was administered intraperitoneally to treatment groups at concentrations of 10, 35 or 100 mg/kg at 1 and 24 h following the intracerebral collagenase injection. Hematoma-induced controls and sham operated animals received saline IP at 1 and 24 h following the intracerebral injection. A neurological exam and a rotarod test were used to evaluate rats prior to, as well as 24 h and 48 h following the intracerebral injection. Following euthanasia at 48h, half of the animals of each group were used to determine brain water content and the other half for histopathology with image analysis and GFAP immunoreactivity. A qualitative assessment was done to determine vascular changes, neurodegeneration and the presence of intralesional erythrocytes.

Results - Behavioral scores (neurological exam and rotarod) were significantly improved with MP treatment using 35 mg/kg and 100 mg/kg and the hematoma volume was significantly smaller with every MP concentrations. Neutrophils were less numerous in the hematoma of methylprednisolone treated animals but the number of reactive astrocytes did not vary. The number of necrotic neurons in the penumbra was not changed with treatment however necrotic neurons in the temporal cerebral cortex were less numerous.

Conclusion and Clinical Relevance – High doses of methylprednisolone administered shortly after and 24 h following an induced intracerebral hematoma appear beneficial for the treatment of this condition.

INTRODUCTION

Traumatic intracerebral hemorrhage resulting mainly from automobile accidents, falls, bites and crushing injuries, carries high mortality and disability rates in veterinary practice.¹⁻⁵ Recent studies evaluating animals with neurological deficits using nuclear magnetic resonance show that dogs may suffer from stroke and cerebrovascular accidents leading to brain hemorrhage.⁶ Therefore spontaneous and accident-related intracerebral hemorrhages occur in animals. Previous studies using steroids for the treatment of intracerebral hemorrhage and edema have demonstrated conflicting results.⁷⁻¹³ However steroids are commonly used for the treatment of cerebral trauma.

Animal models have played an important role in elucidating the cascade of morphologic and biochemical events occurring after a traumatic brain insult. No single animal model can reliably replicate the full spectrum of traumatic brain injury associated with edema and hemorrhage. Saline and protein infusions, standardized brain contusions, cold lesion-induced trauma, autologous whole blood injections, micro-balloon inflation trauma, impact and inertial acceleration are some models that are useful for the study of neuropathological processes in traumatic brain injury associated with edema and hemorrhage.¹⁴ All have some pitfalls in either poorly replicating traumatic mechanisms responsible for the production of hematoma or being poorly reproducible in terms of the size or the location of the lesion produced. Rosenberg et al. have described a collagenase-induced cerebral hematoma animal model.¹⁵ Since collagenases are proteolytic enzymes present within endothelial cells in an inactive form and that they are secreted at sites of inflammation by mononuclear and polymorphonuclear cells, they seem to be at least in part liable for damage in the traumatic process. The size of the hematoma has been shown to be reproducible and the pathophysiology is similar to spontaneous intracerebral hemorrhage. This model may therefore be more reliable than other models to evaluate therapeutic strategies for the treatment of trauma in animals and humans.

The aim of this study was to assess the neurological performance and histopathological changes associated with methylprednisolone (MP) treatment of an intracerebral collagenase-induced hematoma model at doses of 10, 35 or 100 mg/kg. It has been shown that the early administration of a single large intravenous dose of MP to cats with spinal cord contusion injury can prevent the development of posttraumatic spinal ischemia.¹⁶ There is evidence of beneficial effects of MP in promoting clinical recovery

and preserving spinal cord tissue following blunt injury to the feline spinal cord.¹⁷ If methylprednisolone crosses the blood brain barrier and penetrates the brain tissue in a similar fashion than it does in spinal cord and if pathological mechanisms are similar therefore beneficial effect should therefore be observed for the treatment of intracerebral hemorrhage.

MATERIALS AND METHODS

Animals - Sixty male Sprague-Dawley rats (5 groups of 12 animals) of approximately 185-230g body weight (Charles River, St-Constant, Qc, Canada) were used in this study. All rats were specific pathogen free originating from a barrier facility. Following their arrival, they were kept in a standard laboratory animal environment (fresh filtered air: 15 changes/h, temperature: $21 \pm 3^{\circ}\text{C}$, humidity: 40-60% and light-dark cycle: 12:12 h). They were housed in pairs in polycarbonate cages (Ancare, Bellmore, NY, U.S.A.) on hardwood bedding (Beta chip, Northeastern Products Co., Warrenburg, NY, USA) and acclimated for at least 5 days prior to the initiation of the study. Rats received tap water and laboratory rat diet (Charles River Rodent chow 5075, St-Constant, QC, Canada) ad libitum. The experimental protocol was approved by the Faculty of Veterinary Medicine Institutional Animal Care and Use Committee prior to animal use in accordance with the guidelines of the Canadian Council on Animal Care (1993).¹⁸

Experimental design – Methylprednisolone was administered to different treatment groups ($n = 12/\text{group}$) at concentrations of 10, 35 or 100 mg/kg in saline (dosing volume: 5mL/kg) at 1 and 24 h following the intracerebral collagenase injection. Positive and negative control groups ($n = 12/\text{group}$) received an intracerebral injection of collagenase or saline respectively. These animals also received saline IP at a dose volume of 5 mL/kg at 1 and 24 h following the intracerebral injection. For all groups, half of the animals were used for brain histology and the other half for the evaluation of brain water content. Behavioral evaluations (rotarod and neurological exam) were performed on all animals.

Surgical procedures – The surgical procedures have previously been described.¹¹ Following anesthesia with 60 mg/kg of pentobarbital (MTC Pharmaceuticals, Cambridge, ON, Canada), rats were placed in a stereotaxic instrument (David Kopf Instruments, Tujunga, Ca) and the surgery was performed under aseptic conditions. Following hair clipping and disinfection of the cranium skin, EMLA cream (AstraZeneca, Mississauga, ON, Canada) was applied prior to incision. A sagittal skin incision was performed and a burr hole (1.5 mm diameter) was made in the bone at the following stereotaxic coordinates: antero-posterior 0.0 mm and lateral 3.0 mm, in reference to bregma, so that the injection site would be in the caudoputamen nuclei.¹⁹ To induce the hematoma, a collagenase

solution composed of 0.5 U collagenase Type VII (Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canada) in 2 μ L saline (Abbott Laboratories, St-Laurent, QC, Canada) was injected over a period of 10 min via the burr hole in the right cerebral hemisphere, 5 mm below the dura with a 5 μ L Hamilton syringe. The needle was removed 5 min following the end of the injection and the skin was sutured (silk 4.0). Rectal temperature was monitored during surgery (Thermalert TH-8, Physitemp, Clifton, NJ) and was maintained within normal limits (36.5-37.5°C) throughout the surgery by keeping animals on an electrical heating pad. Following surgery, animals were maintained under a heating lamp until recovery. Similar surgical procedures were followed for sham operated animals (negative controls) except that intracerebral injection consisted of saline only.

Behavioral evaluations - A semi-quantitative neurological exam was used to evaluate the motor performance of the rats prior to and at 24 and 48 h following surgery. This exam has previously been described ¹¹. Tests were selected from previous publications.²⁰⁻²³ All animals were trained for 3 consecutive days prior to pre-surgical neurological exam. The behavioral evaluation, scored between 0 (poor or absent) and 4 (normal performance), was composed of the following tests: activity, locomotion, positional passivity, visual positioning, climbing, tail rigidity, tremor and hopping.

Animals were also tested on a rotarod treadmill (ENV-576, Med Associates Inc., St-Albans, VT, USA.). Following training, rats were evaluated prior to and at 24 and 48 h following surgery by setting the rotarod to the acceleration mode of 5 to 35 revolutions per min over 5 min. The maximal time stayed on the rotarod, up to a total time of 5 min, was recorded for each performance. A mean of 3 trials was used to represent animal performance. Values are reported as a percentage of the pre-surgery evaluation of each animal.

Determination of Brain Water Content - Forty-eight hours following surgery, half of animals (n = 30, 6/group) were injected with pentobarbital (90 mg/kg, IP) and brains were quickly removed. Hemispheres were separated and cut in four coronal sections of equal thickness in the antero-posterior direction identified as slices F (frontal), P1 (anterior parietal), P2 (posterior parietal) and O (occipital) of the right (R) and left (L) cerebral hemispheres. Each slice, placed in a glass tube, was weighed before and after drying for 24

h in an oven at 100°C. Brain water content was expressed as the percent change between wet weight (WW) and dry weight (DW) (formula: $WW-DW/WW \times 100$).

Perfusion, histological procedures, immunohistochemistry and image analysis -

Following the neurological assessment at 48 h post-intracerebral injection, half of the animals (n = 30, 6/group) were perfused through the heart under deep anesthesia (pentobarbital; 100 mg/kg, IP) first with a physiological dextrose-sucrose solution (200 mL/rat; solution composition (1L): 8 g NaCl, 4g dextrose, 8 g sucrose, 0.23 g calcium chloride (Sigma Inc., St-Louis, Mo)) followed by a buffered 10 % formol (200 mL/rat) solution. For microscopic evaluation, brains were fixed in formol for 48 h, embedded in paraffin and 5µm sections were stained with hematoxylin, eosin and saffron (H&E). The hematoma volume was calculated by multiplying the hematoma surface by the distance between two consecutive (100µm) brain sections. In addition, the number of neutrophils in the hemorrhagic area and necrotic neurons area were evaluated. Because of the difficulty to select common histopathological characteristics of necrotic neurons, only cells that showed typical cytoplasmic shrinkage were evaluated. The number of necrotic neurons was evaluated in the penumbral area of the hematoma as well as in the temporal cerebral cortex adjacent to the hematoma. To determine astrocytic reactivity, immunohistochemistry for glial fibrillary acidic protein (GFAP) was performed using polyclonal antibodies (immunoglobulin fraction of rabbit antisera diluted in phosphate buffered saline (pH 7.6) with 1% bovine serum albumin) (BioGenex Laboratories, San Ramon, CA, USA). Astrocytes were counted in the penumbral area of the hematoma as well as in the cortex. Hematoma volume evaluation and cell counts (average of 4 fields at 20 X for the penumbral area and average of 3 fields at 20 X for the cortex) were performed with an image analysis system (Simple PCI, Compix Inc. Imaging Systems, Cranberry Township, PA, USA). No lesion was observed in sham operated animals, except for very minor necrosis immediately surrounding the injection site, and therefore no histological result is reported for these animals.

Statistical analysis - Statistical significance level was set a priori at $p < 0.05$. Statistical analyses were performed using Statistica software (Statsoft Version 4.3, Tulsa, OK, USA)

for simple t-tests applied to selected results. Analysis of variance and post hoc Tukey test were performed with SAS (Version 8.02, Cary, NC, USA) for behavioral evaluations.

RESULTS

Behavioral evaluations – Mean behavioral scores for the neurological exam ($\% \pm$ SD) are presented in Figure 1. The semi-quantitative neurological exam revealed a beneficial effect of treatment ($p < 0.0001$), an effect with time ($p < 0.0001$) and an interaction between time and treatment ($p < 0.0001$). Neurological scores did not vary significantly for all groups (Tukey post-hoc). The main effect was noted with 100 mg/kg MP compared to positive controls ($p < 0.03$). Average neurological scores dropped from 100 prior to the intracerebral injections to 80 ± 10 at 24 h and to 64 ± 10 at 48 h following collagenase injection in animals that were treated IP with saline only (positive controls). For the methylprednisolone treatment groups, scores dropped from 75 ± 13 at 24 h and to 64 ± 10 with a 10 mg/kg dose, from 83 ± 10 at 24 h and to 73 ± 11 with a 35 mg/kg dose and from 88 ± 8 at 24 h and to 77 ± 11 with a 100 mg/kg dose at 24 and 48 h respectively. Although these results suggest a dose-response effect only the 100 mg/kg dose was statistically different from the positive controls. Sham operated animals had scores of 100 prior and following surgical procedures. Different results were observed with the rotarod test (Fig 2). With doses of 35 mg/kg (t-test = 3.60, df = 14; $p < 0.01$) and 100 mg/kg (t-test = 2.59, df = 14; $p < 0.02$) an amelioration of performance was observed at 48 h comparatively to positive controls.

Brain water content – Results (Fig 3) show no significant difference between positive controls and animals treated with different methylprednisolone dosages regarding mean brain water content suggesting no general effect of treatment on edema. When looking at frontal slices (F1), animals treated with MP 35 mg/kg had a significant (t-test = 2.606 df = 10, $p < 0.03$) decrease in brain water content compared to positive controls. There was also a decrease in the brain water content for the antero-parietal slice (P1) but the difference was not significant. No significant difference was noted when looking at individual brain slices for animals treated with MP at 10 and 100 mg/kg.

Histological staining and immunohistochemistry - Histological features of the hematoma at 48 h following the injection of collagenase have previously been described. 15,20 The hematoma zone consisted in cellular debris, neutrophils, scattered clusters of erythrocytes and necrotic parenchyma. No macrophage was observed. Clear spaces within the nervous tissue, interpreted as edema, surrounded the penumbral region and did extend along the corpus callosum in the ipsilateral and contralateral hemispheres. The hematoma

volume was significantly smaller ($p < 0.002$) in animals treated with 10 mg/kg methylprednisolone ($8.4 \pm 3.11 \text{ mm}^3$), 35 mg/kg ($8.7 \pm 4.47 \text{ mm}^3$) and 100 mg/kg ($6.3 \pm 1.66 \text{ mm}^3$) than in non-treated animals ($11.2 \pm 3.82 \text{ mm}^3$). Using image analysis, significant differences in the number of selected cells were observed with treatment. Neutrophil infiltrations were mainly located at the periphery of the lesion. They were much more numerous within the hematoma of non-treated animals (217 ± 53) than in treated animals (10, 35 and 100 mg/kg: 110 ± 38 , 72 ± 26 and 43 ± 12) ($p < 0.005$). The number of astrocytes and of necrotic neurons was evaluated in the penumbral area. The number of astrocytes was similar in treated (10, 35 and 100 mg/kg: 113 ± 18 , 131 ± 61 and 113 ± 16) and in positive controls (113 ± 35) and no significant difference was observed for necrotic neurons (positive controls : 46 ± 16 vs 36 ± 5 , 27 ± 12 and 27 ± 15 in 10, 35 and 100 mg/kg MP treated animals). Astrocytic cells were reactive since they were clearly hypertrophic. Necrotic neurons had a wide set of appearances: some were seen as red cells (eosinophilic neurons) whereas others had a pyknotic nucleus with or without intracytoplasmic vacuolation. Interestingly necrotic neurons in the cerebral cortex were less numerous in treated (10, 35 and 100 mg/kg: 37 ± 13 , 40 ± 20 and 13 ± 16) than in non-treated (51 ± 20) collagenase-treated animals but this was statistically significant only for animals treated with 100 mg/kg of MP ($p < 0.005$) suggesting that local compression of microcirculation due to the smaller hematoma volume may play a role in neuron survival. However this cannot be distinguished from the protective effects of a higher MP dose. Other apparent changes (Tab 1), such as vascular alterations, presence of erythrocytes and neuronal degeneration that could not be quantified were described qualitatively. Vascular degeneration was characterized by infiltration of inflammatory cells, fibrin deposits and loss of integrity of the vascular wall. Neuronal degeneration seen in the penumbral area was characterized by nuclear changes (loss of Nissl's substance and pyknosis), eosinophilic and condensation of cytoplasm. No difference was noted between animals treated with 10 and 35 mg/kg and non-treated animals, however with 100 mg/kg of MP less erythrocytes, less important vascular changes and neuronal degeneration were noted.

DISCUSSION

Behavioral, histopathological and brain water content results suggest that methylprednisolone administered at 35 and 100 mg/kg can be used for the treatment of intracerebral hemorrhage whereas conclusions are less clear with 10 mg/kg. With the dose of 35 mg/kg no significant effect was observed on the neurological exam, however those animals did better on the rotarod which evaluates motor coordination during locomotion. The hematoma volume was reduced to 78% of the hematoma volume of positive controls. However this was not different (75%) from animals receiving 10 mg/kg MP. On the other hand animals treated with 100 mg/kg did better on the neurological exam and the hematoma volume was only 56% of the hematoma volume of positive controls. With this dose, animals also had significantly less necrotic neurons in the temporal cortex. These results suggest that although 35 mg/kg MP may be sufficient to observe a beneficial effect of the treatment, a dose of 100 mg/kg seems to be more efficient to reduce tissue damage and ameliorate motor performance. Recent findings have suggested that deterioration of motor capacities with time may be related to the progressive increased of edema and necrosis observed in cerebral tissue.^{15, 20, 24} Since we did not observe any change in brain water content with the administration of 100 mg/kg of methylprednisolone a combination of drugs should be used to decrease edema and cerebral hematoma volume. A high dose of MP (30 mg/kg) has been shown necessary to improve neurological recovery of head-injured animals.^{9,25} As demonstrated with the severe blunt head injury model causing superficial hematoma, cerebral hematoma also necessitates high doses of MP for efficient treatment.

The battery of behavioural tests appears useful for evaluating the motor capacities of animals with induced-cerebral hematoma up to 48 h and may detect subtle changes in the motor behavior that are not seen with the rotarod test. It may therefore contribute to the evaluation of different treatments for the restoration of neurological function in the period immediately following an intracerebral hemorrhage.

The hematoma volume in animals treated with 35 and 100 mg/kg of methylprednisolone was less than the hematoma volume of non-treated animals. The number of necrotic neurons was not different in the penumbral area but a reduced hematoma volume suggests that less brain tissue is affected and may explain better motor performance in treated animals. Previous findings showed a hematoma volume reduction of 60% following the

administration of 1 mg/kg of dexamethasone comparatively to positive controls.¹¹ No difference in cortical necrosis was noted with dexamethasone contrarily to the administration of 100 mg/kg of MP which caused a significant decrease in cortical necrotic neurons. This suggests that the improved motor performance is not only attributed to a smaller hematoma volume but also to the preservation of cortical neurons. The hematoma can obviously cause an important local compression of nervous tissue and subsequently decrease local blood flow leading to ischemic neurons. Several animal studies have shown a reduction of blood flow in the regions of the brain surrounding the hematoma.²⁶⁻³² Ropper and Zervas favor a vasoconstrictor mechanism to explain the ischemic surround.³¹ Other studies present conflicting results as to the existence of an ischemic zone surrounding an intracerebral hematoma.^{33,34} However we did not observe in the penumbral area, either with dexamethasone or methylprednisolone treatments, a difference in necrotic neurons but this difference was only apparent in the cortex.

Neutrophils within the hematoma were significantly less numerous with MP treatment. Neutrophils have been associated with ischemic damage in the brain.³⁵⁻³⁷ A direct correlation has been established between neutrophil infiltration and ischemic brain injury.³⁶ To support this finding, Matsuo et al. have shown that enhancement of intercellular adhesion molecules, inducing endothelial adhesion and transmigration of neutrophils, occurs with ischemia and that antibodies against cell adhesion molecules reduce edema formation and infarct size.³⁷ Therefore since methylprednisolone reduces the number of infiltrated neutrophils, this may explain in part the smaller infarct volume.

GFAP positive astrocytes located in the penumbral area of the hematoma of MP treated animals were not significantly more numerous than those of non-treated animals. The volume of the cells was clearly increased and therefore astrogliosis was prominent at 48 h. Astrocytic swelling occurs in CNS conditions such as head trauma and hypoxia-ischemia and this results in increases in extracellular potassium, in intracellular calcium as well as with accumulation of excitatory neurotransmitters.³⁸ Astrocytes may protect neuronal necrosis by maintaining local homeostasis. Previous results have shown a decrease in astrogliosis in dexamethasone treated animals however this was not the case with methylprednisolone.¹¹

Corticosteroids have been extensively used to treat vasogenic edema and inflammation related to spinal cord injury .39,40 Steroid may exert beneficial effects on microvasculature by preventing vasoconstriction 41,42 and promoting vasodilation of central vasculature following cerebral hemorrhage.43 Other mechanisms associated with the neuroprotective effect of corticoids are inhibition of lipid peroxidation and antioxidative properties 44 as well as preserving NA-K/Mg ATPase activity.45 Corticosteroids therefore appear useful for the treatment of central nervous system injury.

In conclusion, high doses of methylprednisolone administered shortly after an intracerebral hematoma appear beneficial for the treatment of this condition.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Fond du Centenaire de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal. We wish to thank M. Guy Beauchamp for the statistical analyses and Dr David Silverside for the use of the Compix image analysis system.

REFERENCES

1. **De Lahunta A.** *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*, 2nd ed, Saunders, Philadelphia, PA. 1983.
2. **Summers BA., Cummings JF., de Lahunta A.** *Veterinary Neuropathology*. Mosby-year book. St Louis, MO. 1995.
3. **Dewey CW.** Emergency management of head trauma patient. Principles and practice. Common Neurologic Problems. *Vet Clin North Am* 2000; 30: 207-225.
4. **Hopkins AL.** Head trauma. *Vet Clin North Am (Small Anim Practice)* 1996; 26: 875-891.
5. **Proulx J., Dhupa N.** Severe brain injury: Part II. *Therapy. Compend Contin Educ Prat Vet.* 1998; 20: 897-905
6. **Platt SR, Garosi L.** Canine cerebrovascular disease: Do dogs have strokes?. *J Am Vet Hosp Assoc* 2003; 39: 337-342.
7. **Braakman R, Schouten HJ, Blaauw-van Dishoeck M, et al.** Megadose steroids in severe head injury. Results of a prospective double-blind clinical trial, *J Neurosurg* 1983; 58: 326-330.

8. **Dearden NM, Gibson JS, McDowall DG, et al.** Effect of high-dose dexamethasone on outcome from severe head injury. *J Neurosurg* 1986; 64: 81-88.
9. **Hall ED.** High-dose glucocorticoid treatment improves neurological recovery in head-injured mice. *J Neurosurg* 1985; 62: 882-887.
10. **Holmin S, Mathiesen T.** Dexamethasone and colchicine reduce inflammation and delayed oedema following experimental brain contusion. *Acta Neurochirug* 1996; 138: 418-424.
11. **Lema P, Girard C, Vachon P.** Evaluation of dexamethasone for the treatment of intracerebral hemorrhage using a collagenase-induced intracerebral hematoma model in rats. (Accepted for publication 2004).
12. **Mainig G, Deisenroth K.** Dose-response relation for dexamethasone in cold lesion-induced brain edema in rats. *Adv Neurol* 1990; 52: 295-300.
13. **Vachon P, Moreau JP.** Low doses of dexamethasone decrease cerebral brain water content of collagenase induced cerebral hematoma. *Can J Vet Res* 2003; 67: 157-159.
14. **Finnie JW, Blumbergs PC.** Traumatic brain injury. *Vet Path.* 2002; 39: 670-689.

15. **Rosenberg GA, Mun-Bryce S, Wesley M, et al.** Collagenase-induced cerebral hemorrhage in rats. *Stroke* 1990; 21: 801-807.
16. **Hall ED, Braugher JM.** Corticosteroid therapy in experimental cord injury. *J Neurosurg.* 1984 61: 805-806.
17. **Braugher JM, Hall ED.** Effects of multi-dose methylprednisolone sodium succinate administration on injured cat spinal cord neurofilament degradation and energy metabolism. *J Neurosurg.* 1984; 6: 290-295.
18. **Canadian Council on Animal Care.** Guide to the Care and Use of Experimental Animals. Ottawa, Ontario, Canada, 1993.
19. **Paxinos GT, Watson C.** The rat brain in stereotaxic coordinates. 4th Ed. Academic Press. San Diego, 1998.
20. **Del Bigio MR, Yan HJ, Buist R, et al.** Experimental intracerebral hemorrhage in rats. Magnetic resonance imaging and histopathological correlates. *Stroke* 1996; 127: 2312-2319.
21. **Irwin S.** Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharm* 1968; 13: 222-257.

22. **Oliver JE, Lorenz MD.** Handbook of veterinary neurology. Saunders W.B., Philadelphia, 1993.
23. **Vachon P, Ste-Marie L., Montgomery J.** Utilisation de tests comportementaux pour prédire l'étendue de l'ischémie cérébrale induite par la cautérisation de l'artère cérébrale moyenne. *Sci Tech Anim Lab* 1999; 24 : 171-177.
24. **Chesney JA, Kondoh T, Conrad JA, et al.** Collagenase-induced intrastriatal hemorrhage in rats results in long-term locomotor deficits. *Stroke* 1995; 26, 312-316.
25. **Park CO.** The effects of methylprednisolone on prevention of brain edema after experimental moderate brain injury in rats – comparison between dosage, injection time, and treatment. *Yonsei Med J* 1998; 39: 395-403.
26. **Bullock R, Brock-Utne J, van Dellen J, et al.** Intracerebral hemorrhage in a primate model: effect on regional cerebral blood flow. *Surg Neurol* 1988; 29: 101-107.
27. **Kingman TA, Mendelow AD, Graham DI, et al.** Experimental intracerebral mass: time-related effects on local cerebral blood flow. *J Neurosurg* 1968; 67: 732-738.

28. **Mendelow AD, Bullock R, Teasdale GM, et al.** Intracranial hemorrhage induced at arterial pressure in rats. Part 2: short term changes in local cerebral blood flow measured by autoradiography. *Neurol Res* 1984; 6: 189-193.
29. **Nath FP, Jenkins A, Mendelow AD, et al.** Early hemodynamic changes in experimental cerebral hemorrhage. *J Neurosurg* 1986; 65: 697-703.
30. **Nehls DG, Mendelow AD, Graham DI, et al.** Experimental intracerebral hemorrhage: progression of hemodynamic changes after production of a spontaneous mass lesion. *Neurosurg* 1988; 23: 439-444.
31. **Ropper AH, Zervas NT.** Cerebral blood flow after experimental basal ganglia hemorrhage. *Ann Neurol* 1982; 11: 266-271.
32. **Yang GY, Betz AL, Chenevert TL, et al.** Experimental intracerebral hemorrhage: relationship between brain edema, blood flow, and blood-brain barrier permeability in rats. *J Neurosurg* 1984; 81: 93-102.
33. **Qureshi AI, Wilson DA, Hanley DF, et al.** No evidence from an ischemic penumbra in massive experimental intracerebral hemorrhage. *Neurology* 2001; 52: 266-276.

34. **Wagner KR, Xi G, Hua Y, et al.** Lobar intracerebral hemorrhage model in pigs: Rapid edema development in perihematoma white matter. *Stroke* 1996; 27: 490-497.
35. **Shiga Y, Onodera H, Kogure K, et al.** Neutrophil as a mediator of ischemic edema formation in the brain. *Neurosci Lett* 1991; 125: 110-112.
36. **Matsuo Y, Onodera H, Shiga Y, et al.** Correlation between myeloperoxidase-quantified neutrophil accumulation and ischemic brain injury in the rat. Effects of neutrophil depletion. *Stroke* 1994; 7: 1469-1475.
37. **Matsuo Y, Onodera H, Shiga Y, et al.** Role of cell adhesion molecules in brain injury after transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *Brain Research* 1994; 656: 344-352.
38. **Montgomery DL.** Astrocytes: form, functions and roles in disease. *Vet Path* 1994; 31: 145-167.
39. **Liddle GW.** Clinical pharmacology of the anti-inflammatory steroids. *Clin Pharmacol Ther* 1961; 2: 615-635.
40. **Long D.M., Hartmann JF, French LA.** The response of experimental cerebral edema to glucocorticoid administration. *J Neurosurg* 1966; 24: 843-854.

41. **Emerson TE, Bryan WJ.** Regional cerebral blood flows in the endotoxin shock with methylprednisolone treatment. *Proc Soc Exp Biol Med* 1977; 156: 378-381.
42. **Emerson TE, Raymond RM.** Methylprednisolone in the prevention of cerebral hemodynamics and metabolic disorders during endotoxin shock in the dog. *Surg Gynecol Obstet* 1979; 148: 361-366.
43. **Fox JL, Yasargil MG.** The relief of intracranial vasospasm : an experimental study with methylprednisolone and cortisol. *Surg Neurol* 1975; 3: 214-218.
44. **Hall ED.** Neuroprotective actions of glucocorticoid and nonglucocorticoid steroids in acute neuronal injury. *Cell Mol Neurobiol* 1993; 13: 415-432.
45. **Ildan F, Polat S, Oner A, et al.** The effect of the treatment of high-dose methylprednisolone on Na-K/Mg ATPase activity and lipid peroxidation an ultrastructural findings following cerebral contusion in rats. *Surg Neurol* 1995; 44: 573-580.

LEGEND TO FIGURES AND TABLE

Figure 1. Histogram representation of mean neurological exams as a percentage (\pm SD) prior to (24 h pre) and following treatment (24 and 48 h post) in animals that received intracerebral saline (negative control group (black)) and in animals that received intracerebral collagenase without (positive control group (dark grey)) and with intraperitoneal methylprednisolone treatment (10 (checked), 35 (light grey) and 100 (striped) mg/kg) ($p < 0.03$) for 100 mg/kg MP treatment group only

Figure 2. Histogram representation of mean rotarod scores as a percentage (\pm SD) prior to (24 h pre) and following treatment (24 and 48 h post) in animals that received intracerebral saline (negative control group (black)) and in animals that received intracerebral collagenase without (positive control group (dark grey)) and with intraperitoneal methylprednisolone treatment (10 (checked), 35 (light grey) and 100 (striped) mg/kg). At 48h, performance was significantly better for animals treated with 35 mg/kg ($p < 0.01$) and 100 mg/kg ($p < 0.02$) of MP.

Figure 3. Histogram representation of brain water content (\pm SD) prior to (24 h pre) and following treatment (24 and 48 h post) in animals that received intracerebral saline (negative control group (black)) and in animals that received intracerebral collagenase without (positive control group (dark grey)) and with intraperitoneal methylprednisolone treatment (10 (checked), 35 (light grey) and 100 (striped) mg/kg). Water content was determined in 4 coronal sections (F, P1, P2 and O) of approximately equal thickness taken from the right (R) and left (L) cerebral hemispheres.

$p < 0.03$ for 35mg/kg MP treatment in F slice only

Table 1. Qualitative evaluations of the presence of erythrocytes, vascular changes and neuronal degeneration from H&E preparations of the brain sections with the hematoma in positive controls and all treatment groups.

(Table footnotes)

Presence of erythrocytes :

- +++ Many erythrocytes within the hematoma and penumbral areas. Formation of a band of erythrocytes surrounding the necrotic area.
- ++ Few erythrocytes within the hematoma and penumbral areas. Formation of a discontinuous small band surrounding the necrotic area.
- + Very few erythrocytes within the hematoma area and penumbral areas.

Vascular changes

- +++ Vessels in the penumbral area surrounded by inflammatory cells (cuffing). Few vessels are intact, fibrin deposits are seen and there is loss of the integrity of the vessel wall.
- ++ Few vessels are intact. Very little evidence of degeneration and cuffing.
- + Most vessels are intact. Cuffing is rarely present. Absence of vascular degeneration.

Neuronal degeneration

Characteristics of neuronal degeneration are: nuclear changes (loss of visibility of Nissl's substance or pycnosis), eosinophilic and shrinkage of cytoplasm).

- +++ Very abundant degenerating neurons showing typical characteristics.
- ++ Many degenerating neurons.
- + Few degenerating neurons.

FIGURES AND TABLE

Figure 1

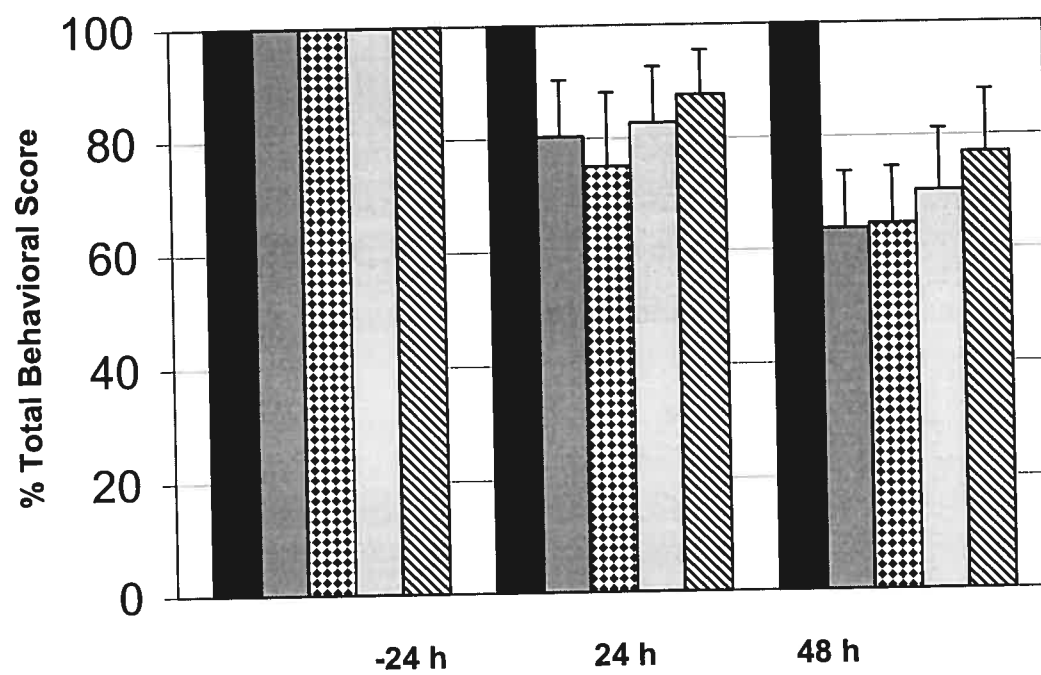


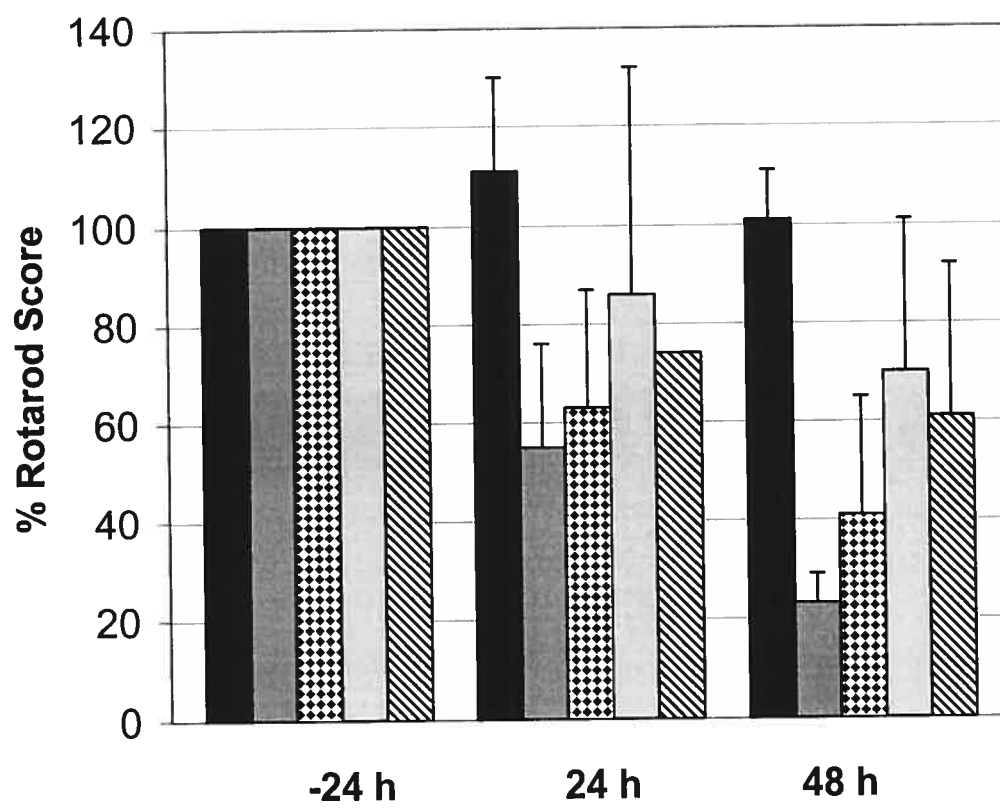
Figure 2

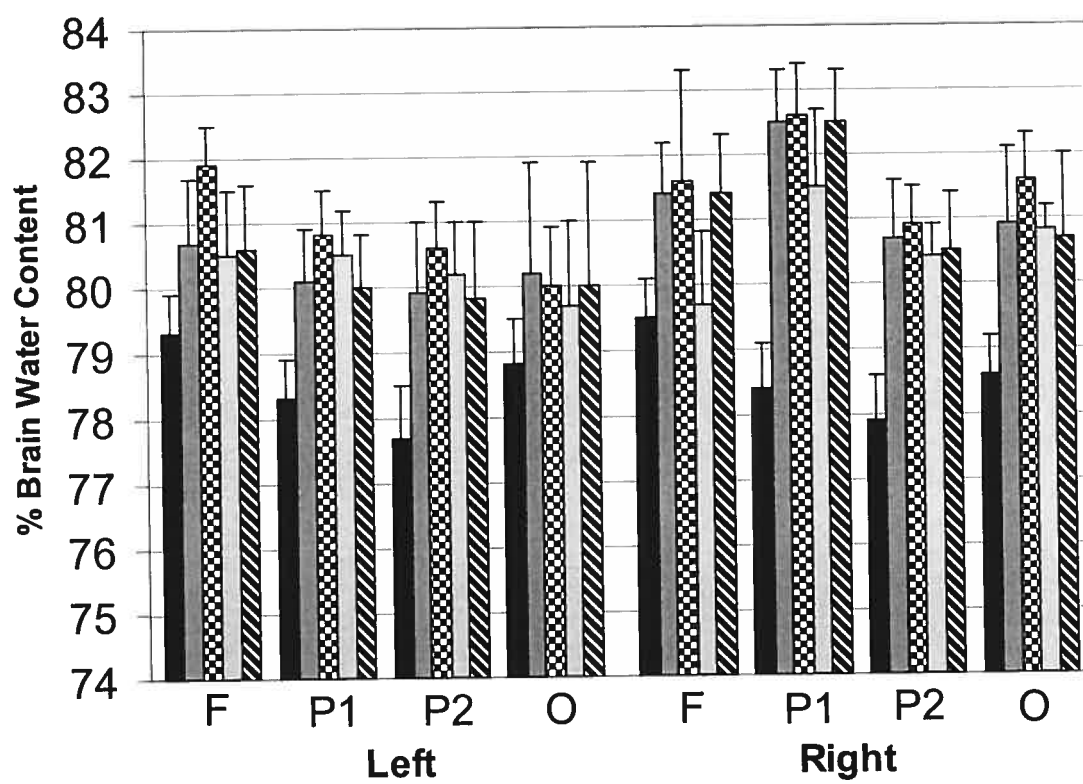
Figure 3

Table 1

Animal ID	Presence of Erythrocytes	Vascular Changes	Neuronal Degeneration
POSITIVE CONTROL GROUP			
C1	++	++	+++
C2	+++	+++	+++
C3	+++	+++	++
C4	++	++	++
C5	+++	++	++
C6	+++	++	+++
10 mg/kg TREATMENT GROUP			
10-1	+++	++	+++
10-2	+++	+++	+++
10-3	+++	+++	+++
10-4	+++	+++	+++
10-5	++	++	+++
10-6	+++	++	+++
35 mg/kg MP TREATMENT GROUP			
35-1	+++	++	++
35-2	+++	+++	+++
35-3	++	++	+++
35-4	+++	+++	+++
35-5	++	++	++
35-6	++	++	++
100 mg/kg MP TREATMENT GROUP			
100-1	++	++	+
100-2	+++	++	++
100-3	++	++	+
100-4	+	+	++
100-5	++	++	+++
100-6	+++	++	+++

DISCUSSION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS

ET CONCLUSION

1. INTRODUCTION

La controverse entourant l'utilisation des corticoïdes pour le traitement de l'hémorragie cérébrale et l'œdème post-traumatique doit être résolue par une expérimentation extensive comprenant plusieurs approches. Nous avons abordé le sujet du point de vue clinique mais aussi histopathologique et pharmacologique. Nos expériences ont essayé de souligner les effets du traitement de l'hémorragie intracérébrale sur les déficits produits, sur la fonctionnalité motrice du système nerveux central et sur les changements du contenu en eau du cerveau. Les caractéristiques histopathologiques de la lésion et les changements vasculaires et cellulaires reliés à l'inflammation et au dommage du parenchyme cérébral ont été aussi considérés.

2. ÉVALUATION FONCTIONNELLE

Nous avons sélectionné un ensemble de tests (Del Bigio M.R. et al., 1996; Irwing S., 1968; Oliver J.E., Lorenz M.D., 1993; Rondeau D.B. et al., 1998; Vachon P. et al., 1999) pour mettre en évidence les déficits fonctionnels consécutifs à une lésion atteignant les noyaux gris de la base du cerveau. Cette batterie de tests semi-quantitatifs a permis de détecter des déficits neurologiques subtils et nous considérons qu'elle pourrait être adaptée en médecine vétérinaire pour l'évaluation clinique des patients affectés par une lésion similaire.

La lésion hémorragique des ganglions de la base du cerveau est accompagnée de signes cliniques neurologiques sévères. Certains sont de nature générale (diminution de l'activité) tandis que d'autres sont directement reliés à la lésion aux noyaux gris (la tendance de la marche au tournis unilatéral, les anomalies de la posture et la présence de tremblements ainsi que les déficits proprioceptifs et une coordination motrice déficiente) (Martin J.H., 1989; Richard D., Orsal D., 2001).

Les performances neurologiques des animaux se sont détériorées de façon très notable après l'injection de collagénase. La perte fonctionnelle a été plus prononcée à 48 heures. Ce temps a été signalé par G.A. Rosenberg et al. (1990) comme la période où l'œdème atteint son maximum et conséquemment où l'augmentation de la pression intracrânienne après la lésion hémorragique est la plus élevée. Ils ont démontré que la détérioration des performances neurologiques sous les conditions de ce modèle est également maximale durant cette période. Les premières 48 heures sont donc

déterminantes pour le pronostic et l'évaluation de l'efficacité des traitements ciblés pour restaurer la fonction et minimiser le dommage tissulaire.

Nous avons choisi la dexaméthasone et la méthylprednisolone parmi les corticoïdes utilisés pour le traitement du dommage cérébral aigu puisqu'ils sont utilisés de façon extensive en médecine vétérinaire. La dexaméthasone s'est avérée efficace pour améliorer la performance neurologique des animaux lorsqu'elle a été administrée à la dose de 1 mg/kg/jour durant 48 heures, avec une première dose 1 heure après l'injection de collagénase. L'examen neurologique semi-quantitatif a montré un effet bénéfique du traitement ($p < 0.0001$), un effet du temps ($p < 0.0001$) et une interaction du temps et traitement ($p < 0.0001$). Les scores ont varié entre les groupes (test post-hoc de Tukey) dans l'ordre suivant des groupes: contrôle positif < dexaméthasone < contrôle négatif. Quant à l'évaluation de la coordination motrice à l'aide du rotarod, il n'y a pas eu de différences significatives entre le groupe traitement et le groupe contrôle positif.

Dans le cas de la méthylprednisolone, l'effet bénéfique n'a pas été le même pour tous les groupes. Bien que les résultats suggèrent une réponse dose-dépendante, uniquement le groupe 100 mg/kg/jour durant 48 heures, avec une première dose 1 heure après l'injection de collagénase a été statistiquement différent du groupe contrôle positif ($p < 0.03$). Les résultats de l'évaluation à l'aide du rotarod ont montré une différence significative entre le groupe contrôle positif et les groupes 35 mg/kg ($p < 0.02$).

Considérant que la dexaméthasone est 6 fois plus puissante relativement à la méthylprednisolone (Chastain C.B., 1993), elle devrait être la plus efficace pour améliorer la performance de l'évaluation neurologique après l'hémorragie. Une dose de dexaméthasone de 1 mg/kg/jour devrait être équivalente à 6 mg/kg/jour de méthylprednisolone. Par contre, les performances neurologiques ne se sont améliorées significativement que lorsqu'une dose de 100 mg/kg de méthylprednisolone a été utilisée. Un élément pouvant contribuer à cette différence est la capacité supérieure de la dexaméthasone de réduire le pourcentage en eau du cerveau.

L'évaluation de la coordination motrice à l'aide du rotarod a donné des résultats paradoxaux. Les doses de méthylprednisolone de 35 et 100 mg/kg ont amélioré de façon significative les performances des animaux tandis que la dexaméthasone a échoué sur ce point. Nous n'avons pas trouvé d'explication plausible. La batterie de test a été basée sur les déficits présents lors de lésion sous-corticale (Chesney J.A. et al., 1995; Del Bigio M.R

et al., 1996; Richard D., Orsal D., 2001; Rosenberg G.A. et al. 1990) et ce, pour souligner surtout les déficits ponctuels. Le rotarod fait une appréciation de l'ensemble du système nerveux impliquant de nombreuses structures et fonctions, allant de la coordination motrice et l'équilibre jusqu'à l'apprentissage et la mémoire. Autrement dit, même s'il s'agit d'évaluations fonctionnelles, les structures et voies impliquées sont assez différentes. Ceci pourrait faire partie des causes de ce résultat contradictoire. L'action particulière des deux corticoïdes sur diverses populations neuronales et sur la glie ainsi que la pharmacologie de chacune de ces drogues devraient être étudiées pour résoudre cette question. D'autre part, certains effets des corticoïdes ont été décrits récemment, tels que l'inhibition de la peroxydation lipidique, les propriétés antioxydantes et les fonctions neuroprotectrices du type de la préservation de l'activité de la NA-K/Mg ATPase (Ildan F. et al., 1995). L'effet antioxydant de la méthylprednisolone a été mentionné comme une des raisons pour la recommandation de ce corticoïde à des doses extra-élevées (Hall E.D., 1985, Hall E.D., Braugher J.M., 1989). Par contre, la dexaméthasone a été signalée comme causant un stress oxydatif et la peroxydation lipidique (De K. et al., 2004; Zhang Y. et al., 2004). Ceci démontre une fois plus les différences entre ces deux glucocorticoïdes. Il est donc possible que les effets bénéfiques sur la performance neurologique après une hémorragie intracérébrale soient dus à des mécanismes différents, comme l'efficacité de la dexaméthasone pour réduire l'œdème cérébral et de l'autre côté l'effet antioxydant de la méthylprednisolone. Autrement dit, la dexaméthasone réduirait la mort cellulaire pour réduire la compression intracrânienne causé par l'œdème tandis que la méthylprednisolone pourrait préserver le tissu du dommage grâce à ses propriétés antioxydantes. Évidemment plusieurs autres mécanismes communs aux GC interviennent dans le résultat thérapeutique final.

3. ÉVALUATION DU CONTENU EN EAU DU CERVEAU

Les troubles circulatoires et la détérioration de la barrière hématoencéphalique produits par la collagénase causent de l'œdème cérébral (Holmin S. et al., 1995; Robert A.M., Godeau G. 1974; Rosenberg G.A. et al. 1993) et cette dernière condition est à l'origine de graves conséquences fonctionnelles dues aux particularités anatomophysiologiques du cerveau, causant notamment l'augmentation de la pression intracrânienne (Klatzo, I., 1987). Les corticostéroïdes ont été amplement utilisés pour le

traitement de l'œdème et de l'inflammation de la moelle épinière et du cerveau (Liddle G.W., 1961; Long D.M. et al., 1966) et ils peuvent produire de nombreux effets bénéfiques sur la microcirculation en prévenant la vasoconstriction (Emerson T.E., Bryan W.J., 1977; Emerson T.E., Raymond R.M., 1979) ainsi qu'en produisant une vasodilatation (Fox J.L., Yasargil M.G., 1975).

L'efficacité de la dexaméthasone pour réduire le contenu en eau du cerveau (considéré comme une mesure indirecte de l'œdème cérébral) après une hémorragie intracérébrale a été démontrée par P. Vachon et J.P. Moreau (2003). Par contre, aucune concentration de méthylprednisolone ne s'est avérée suffisamment efficace pour causer une différence significative entre la moyenne du pourcentage en eau total du cerveau des groupes traités et celle du groupe contrôle positif. Cela dit, si on se centre sur la tranche frontale droite, le groupe 35 mg/kg a été significativement différent du groupe contrôle positif. Une diminution du pourcentage en eau a été aussi notable dans la tranche pariétale antérieure droite, mais sans être significative. Ce résultat est intéressant puisque l'hématome a été induit dans le caudoputamen droit en atteignant principalement la moitié rostrale du cerveau en correspondance avec les tranches qui ont montré la différence. L'aptitude de la dexaméthasone et de la méthylprednisolone de diminuer l'œdème cérébral régional a donc comme conséquence une réduction de la compression tissulaire sur les parois du crâne. Ceci pourrait expliquer, du moins en partie, le plus petit nombre de neurones nécrotiques trouvés dans le cortex des animaux qui ont reçu le traitement de dexaméthasone ou de méthylprednisolone. Néanmoins, d'autres mécanismes, par exemple l'effet anti-oxydant susmentionné, pourraient être impliqués dans cette préservation neuronale considérant que cet effet bénéfique a aussi été noté dans le groupe traité avec 100 mg/kg de méthylprednisolone, pour lequel l'effet anti-œdémateux n'est pas présent.

4. ÉVALUATIONS HISTOPATOLOGIQUE ET IMMUNOCYTOCHIMIQUE

Le nombre de neurones nécrotiques était similaire dans la région de la pénombre pour tous les groupes traités avec la dexaméthasone ou la méthylprednisolone ainsi que pour les contrôles positifs. Ceci suggère que les événements ayant lieu à la limite de l'hématome sont d'une gravité difficile à contrôler avec les thérapies anti-inflammatoires courantes. Par contre, les deux corticoïdes ont été efficaces dans la réduction du volume de l'hématome et évidemment la région gravement affectée doit être moins étendue pour les

animaux traités. Donc, une proportion plus importante de parenchyme cérébral resterait normal. Nous considérons que la réduction du volume de l'hématome est une donnée d'importance fondamentale. Elle suggère que les glucocorticoïdes utilisés promptement lors d'hémorragie cérébrale peuvent non seulement agir sur les conséquences inflammatoires de l'accumulation de sang dans le parenchyme cérébral mais aussi réduire la dimension de la lésion primaire tout en influençant la formation et développement de l'hématome.

Nous avons déjà mentionné que la compression intracérébrale due à l'œdème et aux altérations du flux sanguin a des conséquences sur le cortex cérébral voisin de l'hématome même s'il n'est pas touché directement. Nous avons quantifié les neurones nécrotiques dans le cortex ipsilatéral à la région hémorragique. Nous avons trouvé une réduction significative du nombre de neurones nécrotiques avec l'utilisation de la dexaméthasone par rapport au groupe contrôle positif. La méthylprednisolone a eu le même effet avec une dose de 100 mg/kg. Ces résultats aident à la compréhension des résultats complexes de l'évaluation fonctionnelle tout en suggérant que le dommage s'étend plus loin que le noyau caudoputamen. Ainsi, il affecte des structures de hiérarchies diverses entraînant un vaste éventail de signes cliniques. Les effets protecteurs des corticoïdes à l'égard de la microcirculation (Emerson T.E., Bryan W.J., 1977; Emerson T.E., Raymond R.M., 1979) peuvent jouer ici un rôle très important.

L'inflammation subséquente à l'hémorragie, qu'elle soit d'origine traumatique ou spontanée, a une grande influence sur le développement du dommage cérébral. Les mécanismes de cette réaction inflammatoire ont été l'objet de nombreuses études (Matsuo et al., 1994a; Matsuo et al., 1994b; Xue M, Del Bigio M.R., 2000). Certains auteurs ont affirmé que les érythrocytes et leurs produits de dégradation (l'hémoglobine, l'oxyhémoglobine ou le fer) sont des éléments importants dans le processus inflammatoire et la formation de l'œdème (Sadrzadeh S.M. et al., 1987; Xi G. et al., 1998; Xi G. et al., 2001). Curieusement, d'autres auteurs affirment le contraire en mettant l'accent sur les leucocytes comme la principale cause du dommage (Xue M., Del Bigio M.R., 2000). Nous avons utilisé la coloration de bleu de Prusse sur une sélection d'échantillons d'animaux traités avec la dexaméthasone et de contrôles positifs. Dans tous les cas les résultats se sont avérés négatifs ce qui suggère que la toxicité serait causé par l'hémoglobine sans une contribution directe du fer. Nous avons aussi fait une appréciation qualitative de la

présence d'érythrocytes intacts et du degré de dommage vasculaire à 48 heures post-injection. Dans les groupes traités avec la dexaméthasone ou la méthylprednisolone (100 mg/kg) le nombre d'érythrocytes et les changements vasculaires ont semblé moins importants. Les érythrocytes se sont regroupés principalement dans les régions entourant le centre nécrotique de la lésion. Dans le cas des animaux sans traitement, ils ont formé une bande presque continue dans la pénombre. Les animaux traités avec la dexaméthasone ou la méthylprednisolone (100 mg/kg) ont montré des regroupements discontinus d'érythrocytes dans la région de la pénombre et ils semblaient beaucoup moins abondants. Les changements vasculaires ont été très sévères dans le cas des animaux sans traitement. Un nombre important des vaisseaux ont montré différents degrés de nécrose vasculaire et de vasculite. Plusieurs ont présenté une infiltration de cellules inflammatoires dans la paroi et dans les espaces de Virchow-Robin prenant l'allure de «cuffings» périvasculaires tandis que les plus gravement atteints ont exhibé une dégénérescence très importante avec une perte complète de l'architecture normale en plus d'une infiltration de fibrine dans la lumière et dans l'espace périvasculaire. Les animaux traités avec la dexaméthasone ou la méthylprednisolone (100 mg/kg) ont montré plus de vaisseaux d'aspect normal et une faible présence de vaisseaux avec un dommage très sévère.

Les neutrophiles sont présents dans de nombreux processus inflammatoires aigus et ils sont, en grande partie, responsables de la réponse précoce de l'organisme au dommage tissulaire. Nous avons estimé que la quantification de ces cellules dans l'aire lésionnelle pourrait être un bon indice du dommage inflammatoire aigu. Les neutrophiles ont la capacité de libérer de nombreux agents chimiques causants de la destruction cellulaire et du tissu conjonctif. La membrane cellulaire des neutrophiles est le siège de l'enzyme NADPH oxydase, responsable de la génération d'une famille d'oxydants chimiques propre aux mammifères et capable de générer d'importants dommages oxydatifs. Dans des conditions normales, ces toxines défendent l'organisme de l'attaque de microorganismes. Par contre, les neutrophiles ont une faible capacité de différenciation des cibles atteintes et un tissu improprement identifié ou endommagé peut être objet d'agression (Weiss S.J., 1989). Le rôle des neutrophiles dans la production de l'œdème (Janoff A., Zelig J.D., 1968; Sekiya S. et al., 1990; Shiga Y. et al., 1991; Wedmore C. V., Williams T.J., 1981) et du dommage tissulaire inflammatoire du système nerveux central (Matsuo et al., 1994a; Matsuo et al., 1994b) a été bien décrit. Ainsi, nous avons considéré qu'une réaction

inflammatoire moins importante doit être en rapport avec une présence moins nombreuse de neutrophiles dans l'aire de la lésion. Tous les groupes traités avec dexaméthasone et méthylprednisolone ont montré un nombre significativement moins important de neutrophiles dans la région de la pénombre de l'hématome par rapport aux contrôles positifs. Ce résultat suggère fortement que la diminution du nombre de neutrophiles dans l'aire de la lésion est une des clés de l'effet bénéfique de la dexaméthasone et la méthylprednisolone dans le traitement de l'hémorragie cérébrale. Les lysosomes intracytoplasmiques de ces cellules contiennent de nombreux peptides microbicides, des protéines et des enzymes, dont la collagénase. Le dommage inflammatoire produit sous les conditions du modèle d'injection intracérébrale de collagénase doit avoir certaines similitudes biochimiques avec le dommage occasionné dans des circonstances naturelles de l'hémorragie et de l'infiltration massive de neutrophiles dans le parenchyme du cerveau. Par conséquent, nous pensons que le modèle d'injection intracérébrale de collagénase est adéquat pour les études s'intéressant aux mécanismes du dommage et des traitements de cette affection.

La réaction astrocytaire a été évaluée comme deuxième indice d'inflammation. Cette réponse est un important signe histopathologique de dommage tissulaire nerveux (Montgomery D.L. 1994). Cette réaction est locale mais elle s'étend à d'autres régions du cerveau en suivant les connexions des neurones affectés. Les astrocytes accomplissent d'importantes fonctions lors d'un dommage neuronal et peuvent protéger les neurones tout en soutenant l'homéostasie. Ils sont plus résistants que les neurones au dommage causé par plusieurs facteurs de détérioration tels que l'augmentation de la concentration extracellulaire de potassium et de calcium ainsi que l'hypoxie ou l'accumulation de neurotransmetteurs (Montgomery D.L., 1994). Les animaux traités de tous les groupes et les contrôles positifs ont montré une réaction astrocytaire évidente, dans la région de la pénombre de la lésion, dans le cortex adjacent, dans le corps calleux et dans le caudoputamen controlatéral. Dans la région de la pénombre de l'hématome, cette réaction a été plus importante chez les animaux lésés sans traitement (groupe contrôle positif) par rapport au groupe traité avec dexaméthasone. Cependant, il n'y a pas eu de différence significative entre le nombre d'astrocytes des groupes traités avec méthylprednisolone et le contrôle négatif de ces groupes. Aucune réaction astrocytaire n'a été détectée dans le groupe contrôle négatif. Ces résultats sont en accord avec l'abondante quantité de

références au sujet de l'influence modulatrice de la dexaméthasone sur l'action des astrocytes. La prolifération des astrocytes est partiellement modulée par l'activation des récepteurs de dexaméthasone présents sur leur membrane cellulaire (Crossin K.L. et al., 1997) en même temps qu'elle affecte la différenciation de certaines structures de la membrane pouvant agir sur la capacité des astrocytes pour diminuer l'œdème (Landis D.M. et al., 1991). La dexaméthasone réduit l'activité phagocytaire des astrocytes de façon similaire à l'action qu'elle a sur les macrophages (Roldan A. et al. 1997). Par contre, la méthylprednisolone est peu souvent citée comme ayant la capacité de modifier la fonction des astrocytes.

	Dexaméthasone 1 mg/kg/jour	Méthylprednisolone		
		10 mg/kg	35 mg/kg	100 mg/kg
Examen neurologique	+	-	-	+
Évaluation du rotarod	-	-	+	+
Pourcentage en eau du cerveau	+	-	+	-
Volume de l'hématome	+	+	+	+
Nombre de neutrophiles	+	+	+	+
Mort neuronal (pénombre)	-	-	-	-
Mort neuronal (Cortex)	+	-	-	+
Réaction astrocytaire	+	-	-	-

Tableau II: Comparaison des résultats entre dexaméthasone et méthylprednisolone. Une croix (+) montre un résultat où l'effet bénéfique a été significatif, un trait (-) montre un résultat sans effet bénéfique significatif..

5. CONCLUSION: UN REGARD D'ENSEMBLE

En conclusion, la dexaméthasone et la méthylprednisolone ont montré des effets bénéfiques pour le traitement de l'hémorragie cérébrale en causant la réduction du volume de la lésion, du nombre de neutrophiles dans la pénombre, la préservation des neurones du cortex, et l'amélioration des performances à l'examen neurologique (tableau II).

La dexaméthasone a également causé la réduction de l'œdème et la modération de la réaction astrocytaire, à «faible» dose (nous avons utilisé 2 mg/jour et les recommandations de la littérature en médecine vétérinaire suggèrent des doses allant jusqu'à 16 mg/kg/jour (Chastain C.B., 1993; Chrisman C.L., 1991; De Lahunta A., 1994; Greene, C.E., Braund K.G., 1993; Oliver J.E., 1985).

La méthylprednisolone a amélioré significativement la performance des animaux au rotarod aux doses de 35 et 100 mg/kg, tandis que la dexaméthasone n'a pas été bénéfique pour cette tâche. Ces différences pourraient être associées aux caractéristiques de chacune des drogues évaluées. Les effets antioxydants de la méthylprednisolone à doses élevées peuvent avoir compensé partiellement son faible effet anti-œdémateux. Ceci expliquerait que les résultats de l'évaluation neurologique et la préservation de neurones du cortex ont été pour la méthylprednisolone semblables à ceux de la dexaméthasone dont la qualité de réduction de l'œdème post-hémorragique est supérieur. Les corticoïdes sont souvent recommandés en association avec d'autres familles de drogues mais rarement combinés entre eux. Nos résultats suggèrent l'obtention d'une meilleure performance en combinant ces deux drogues ce qui pourrait également réduire les effets défavorables.

Le traitement de l'inflammation et l'œdème cérébrale varient selon plusieurs paramètres tels que le stress et les conditions environnementales, l'origine et l'étendue du dommage, la race, l'espèce et l'âge. Les diurétiques sont recommandés pour le traitement de l'œdème et l'augmentation de la pression intracrânienne qui accompagne une grande variété de pathologies crâniennes (Chrisman C.L., 1991; Oliver, J.E., Lorenz M.D., Kornegay J.N., 1997; Capildeo R. *buscar el capitulo*). Le mannitol s'est avéré particulièrement efficace pour le traitement du dommage cérébral sévère et en général il fait parties des premières mesures thérapeutiques avec l'oxygénothérapie et la fluidothérapie. Son mécanisme d'action principal est de diminuer la pression sanguine et la viscosité du sang, permettant ainsi une vasoconstriction. Ceci active le processus d'autorégulation de la pression intracrânienne. L'attraction osmotique du fluide

extracellulaire vers l'espace intravasculaire est présent un peu plus tard se produisant 15 à 30 minutes suite à l'administration du mannitol. D'autres diurétiques peuvent avoir un effet synergique avec le mannitol. Le furosémide administré quelques minutes avant le mannitol empêche l'augmentation de pression transitoire qui suivra l'injection de substances osmotiques actives par la voie intraveineuse ainsi que l'augmentation de pression lors de la diminution de la concentration sérique de mannitol (Dewey C.W. et al. 1992; Dewey C.W. 2000). L'insuline a également des effets neuroprotecteurs, notamment dus à la diminution de l'hyperglycémie. Elle pourrait être utilisée en combinaison avec les glucocorticoïdes dont un des effets secondaires est une hyperglycémie causant d'aggravation des lésions ischémiques dans le cerveau traumatisé (Hamilton M.G. et al., 1988; Voll C.L., Auer R.N., 1988; Gisselsson L. et al., 1999). Donc, de nombreux régimes thérapeutiques sont disponibles pour le traitement de l'hémorragie cérébrale. La recherche utilisant des combinaisons de glucocorticoïdes et avec d'autres drogues traitant différents aspects occasionnés par un trauma cérébral serait une contribution importante à l'approche thérapeutique de cette condition.

En supposant que nos résultats puissent être appliqués aux autres espèces, la dexaméthasone et de la méthylprednisolone peuvent être recommandées pour le traitement de l'hémorragie intracérébrale aiguë. Ceci exigerait des études de pharmacocinétiques complémentaires afin de déterminer la dose plasmatique ayant un effet thérapeutique pour chaque espèce. Il existe assez d'évidence expérimentale pour soutenir l'utilisation de ces drogues dans le but d'obtenir une amélioration fonctionnelle, de réduire l'œdème et de diminuer les dommages associés à la réaction inflammatoire subséquente et ainsi, de préserver l'intégrité histologique et physiologique du parenchyme cérébral.

SOURCES DOCUMENTAIRES

- **American Heart Association.** Accidents vasculaires cérébraux: guide complet à l'usage de la famille: prévention traitement et réadaptation. Adapté par la Fondation des maladies du coeur du Canada. Edition du Trécaré. Saint-Laurent, QC, Canada. 1998;
- **Arana-Iníguez R., Wilson E., Bastarnica E., Medici M.** Cerebral haematomas. *Surgical Neurology*. 1976; 6: 45-52.
- **Auger P., Grmek M.D.** Encyclopédie internationale des sciences et des techniques. Larousse. Presses de la Cité. Paris. 1975.
- **Beks J.W.F., Doorenbos H., Walstra G.J.M.** Clinical experiences with steroids in neurosurgical patients. In: Reulen H.J., Schürmann K., eds. Steroids and brain edema. Berlin: Springer-Verlag. 1972; 233-238.
- **Bérubé L.** Terminologie de neuropsychologie et de neurologie du comportement. Éditions de la Chenelière, Montréal. 1991; 171.
- **Bignami A., Eng L.F., Dahl D., Uyeda C.T.** Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence. *Brain Research*. 1972; 43: 429-435.
- **Bignami A., Dahl D., Seiler M.W.** Neurofilaments in the chick embryo during early development. I. Immunofluorescent study with antisera to neurofilament protein. *Developmental neuroscience*. 1980; 3 (4-6): 151-161.
- **Boulin A.** Pathologie traumatique. In: Vignaud-Boulin, Tomodensitométrie crânio-encéphalique, Vigot éditeur, Paris. 1987; 161-173.

- **Braakman R., Schouten H.J., Blaauw-van Dishoeck M., Minderhoud J.M.** Megadose steroids in severe head injury. Results of a prospective double-blind clinical trial. *Journal of Neurosurgery*. 1983; **58**: 326-330.
- **Broderick J.P., Brott T., Duldner J.E., Tomsick T., Huster G.** Volume of intracerebral hemorrhage: a powerful and easy-to-use predictor of 30-day mortality. *Stroke*. 1993; **24**: 987-993.
- **Broderick J.P., Brott T., Tomsick T., Miller R., Huster G.** Intracerebral hemorrhage more than twice as common as subarachnoid hemorrhage. *Journal of Neurosurgery*. 1993; **78**: 188-191.
- **Broderick J.P., Brott T., Tomsick T., Tew J., Duldner J., Huster G.** Management of intracerebral hemorrhage in a large metropolitan population. *Neurosurgery*. 1994; **34**: 882-887.
- **Brown R.D., Whisnant J.P., O'Fallon W.M., Wiebers D.O.** Stroke incidence, prevalence, and survival: secular trends in Rochester, Minnesota, through 1989. *Stroke*. 1996; **27**: 373-380.
- **Candelise L., Landi G., Orazio E.N., Boccardi E.** Prognostic significance of hyperglycemia in acute stroke. *Archives of Neurology*. 1985; **42**: 661-663.
- **Census Data, Statistics Canada, OBIA, 1996.**
- **Chastain C.B.** Corticoterapia. In: Tratado de medicina interna veterinaria. Ettinger S.J. 3a edicion. By Editorial Inter-Médica. Buenos Aires. 1993; 443-459.

- **Chesney J.A., Kondoh T., Conrad J.A., Low W.C.** Collagenase-induced intrastriatal hemorrhage in rats results in long-term locomotor deficits. *Stroke*. 1995; **26**: 312-316.
- **Chrisman C.L.** Problems in Small Animal Neurology. 2nd ed. Lea & Febiger. Philadelphia. 1991; 126-127.
- **Clarisse J., Francke J.P., Leclerc X., Pruvo J.P.** Scanner du crâne et de l'encéphale, méthode de lecture et d'interprétation. Masson, Paris. 1994; 53-61.
- **Cosnard G., Derosier C., Bonsignour A.** Les traumatismes crânio-encéphaliques. In : Vignaud-Cosnard, IRM crânio-encéphalique, Vigot éditeur, Paris. 1991; 410-424.
- **Côte L.,** Basal ganglia, the extrapyramidal system, and diseases of transmitter metabolism, In: Kandel E.R., Schwartz J.H. Principles of Neural Science. Elsevier. 1983: 351.
- **Cotran, Ramzi S.** Robbins Pathologic Basis of Disease. 6th ed. Philadelphia, Montréal. Saunders. c1999; 1293-1377.
- **Crompton M.R.** The pathogenesis of cerebral infarction following the rupture of cerebral berryaneurysms. *Brain*. 1964; **87**: 491-510.
- **Crossin K.L., Tai M.H., Krushel L.A., Mauro V.P., Edelman G.M.** Glucocorticoid receptor pathways are involved in the inhibition of astrocyte proliferation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1997; **18**; **94**; **6**: 2687-2692.

- **De K., Roy K., Saha A., Sengupta C.** Exploring effects of different antioxidants on dexamethasone-induced lipid peroxidation using common laboratory markers *Acta poloniae pharmaceutica*. 2004; **61** (1): 77-86.
- **De Lahunta A.** Urgencias neurológicas. In: Manual de Procedimientos y tratamientos de urgencia en animales pequeños. Kirk R.W., Bitsner S.I., Ford R.B. 5ª Edición. Editorial Inter-Médica. Buenos Aires. 1994; 120-125.
- **De Lahunta A.** Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology, 2nd ed. W.B. Saunders, Philadelphia, PA. 1983; 130-155, 356-364.
- **Dearden N.M., Gibson J.S., McDowall D.G., Gibson R.M., Cameron M.M.** Effect of high-dose dexamethasone on outcome from severe head injury. *Journal of Neurosurgery*. 1986; **64**: 81-88.
- **Del Bigio M.R., Hui-Jin Yan, Buist R., Peeling J.** Experimental intracerebral hemorrhage in rats, magnetic resonance imaging and histopathological correlates. *Stroke*. 1996; **27**: 2312-2320.
- **Dewey C.W.** Emergency management of head trauma patient. Principles and practice. Common Neurologic Problems. *Veterinary Clinics of North America*. 2000; **30**: 207-225.
- **Dewey C.W., Budsberg S.C., Oliver J.E.** Principles of head trauma management in dogs and cats-part I. *Compendium on Continuing Education for the practicing veterinarian*. 1992; **14**: 199-207.
- **Ducker T.B.** Spontaneous intracerebral hemorrhage. In: Wilkins R.H., Rengachary S.S. eds. Neurosurgery vol 2 New York, NY Mc Graw-Hill. 1985; 1510-1517.

- **Dukes J.** Hypertension: a review of the mechanisms, manifestations, and management. *Journal of Small Animal Practice*. 1992; **33**: 119-129.
- **Emerson T.E., Bryan W.J.** Regional cerebral blood flows in the endotoxin shock with methylprednisolone treatment. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1977; **156**: 378-381.
- **Emerson T.E., Raymond R.M.** Methylprednisolone in the prevention of cerebral hemodynamics and metabolic disorders during endotoxin shock in the dog. *Surgery, gynecology & obstetrics*. 1979; **148**: 361-366.
- Encyclopedia of Neuroscience. Volume I. Edited by George Adelman. A Pro Scientia Viva Title. Birkhäuser. Boston, Basel, Stuttgart. 1987.
- **Eng L.F., Vanderhaeghen J.J., Bignami A., Gerstl B.** An acidic protein isolated from fibrous astrocytes. *Brain Research*. 1971; **28**: 351-354.
- **Fauci A.S., Dale D.C., Balow J.E.** Glucocorticoid therapy: Mechanisms of action and clinical considerations. *Annals of Internal Medicine*. 1976; **84**: 304-345.
- **Faupel G., Reulen H.J., Muller D., et al.** Double-blind study on the effects of steroids on severe closed head injury. In Pappius H.M. Feindel W. eds: Dynamics of Brain Edema. Berlin: Springer Verlag. 1976; 337-343.
- **Fearnside M.R., Simpson D.A.** Epidemiology. In : Head Injury. Pathophysiology and Management of Severe Closed Injury, ed. Reilly P, Bullock R. Chapman and Hall Medical. London, UK. 1997; 3-24.

- **Fenner W.R.** Enfermedades Encefalicas. In: Pocket Companion to Cuarta Edicion del Tratado de Medicina Interna Veterinaria. Ettinger S.J. Editores compiladores Ettinger S.J., Feldman D.G., Lunney Brayley, J. Brayley K.A. Editorial Inter-Medica. Buenos Aires. 1998; 292-311.
- **Finnie J.W., Blumbergs P.C.** Traumatic brain injury. *Veterinary Pathology*. 2002; **39**: 679-689.
- **Flower R.J.** The pharmacology of the glucocorticoids. In: Steroids in diseases of the central nervous system. Ed. Wiley & Sons. Chichester. 1989; 17-24.
- **Fogelholm R., Nuutila M., Vuorela A-L.** Primary intracerebral haemorrhage in the Yyvaskyla region, Central Finland, 1985-89: incidence, case fatality rate, and functional outcome. *Journal Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 1992; **55**: 546-552.
- **Foulkes M.A., Wolf P.A., Price T.R., Mohr J.P., Hier D.B.** The Stroke Data Bank: design, methods, and baseline characteristics. *Stroke*. 1988; **19**: 547-554.
- **Fox J.L., Yasargil M.G.** The relief of intracranial vasospasm: an experimental study with methylprednisolone and cortisol. *Surgical Neurology*. 1975; **3**: 214-218.
- **Frankhauser R., Luginbuhl H., McGrath J.T.** Cerebrovascular disease in various animal species. *Annals of the New York Academy of Science*. 1965; **127**: 817-859.
- **Galich J.H., French L.A., Melby J.C.** Use of dexamethasone in treatment of cerebral edema associated with brain tumors. *The Journal-Lancet*. 1961; **81**: 46-53.

- **García J.H., Anderson M.L.** Circulatory disorders and their effects on the brain. In: Davis R.L., Robertson D. M. eds. Textbook of Neuropathology. 2a edition Baltimore, Md: Williams and Wilkins. 1991; 621-718.
- **Gaston A., Djindjian M., Combes C., Héran F., Le Bras F.** Pathologie traumatique. In: Imagerie du système nerveux. Marsault C., Le Bras F., Gaston A. Flammarion. 1986; 13: 209-231.
- **Giroud M., Gras P., Chadan N., Beuriat P., Milan C., Arveux P., Duams R.** Cerebral haemorrhage in a French prospective population study. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. 1991; **54**: 595-598.
- **Gobiet W., Bock W.J., Liesegang J., et al.** Treatment of acute cerebral edema with high dose of dexamethasone, in Beks J.W.F., Bosch M. Eds: intracranial Pressure III. Berlin: Springer-Verlag. 1976; 231-235.
- **Goldstein G.W.** Pathogenesis of brain edema and hemorrhage: role of the brain capillary. *Pediatrics*. 1979; **64**: 357-173.
- **Graham D.I., Adams J.H., Doyle D.** Ischaemic brain damage in fatal non-missile head injuries. *Journal of the neurological sciences*. 1978; **39**: 213-234.
- **Graham D.I., Gennarelli T.A.** Trauma. In : Greenfield's Neuropathology, ed. Graham DI, Lantos PL, 6th ed., vol. 1, Arnold, London, UK. 1997; 197-262.
- **Green C.E., Braund K.G.** Enfermedades Cerebrales. In: Tratado de medicina interna veterinaria. Tomo I. Ettinger S.J. 3a edicion. By Editorial Inter-Médica. Buenos Aires. 1993; 617-664.

- **Green R.A., Buck W.B.** Intoxicaciones por warfarina y otros anticoagulantes. In: *Terapéutica veterinaria. Practica clínica en especies pequeñas. Tomo I.* Editado por R. Kirk. Compañía Editorial Continental. México. 1985; 148-151.
- **Gudeman S.K., Miller J.D., Becker D.P.** Failure of high-dose steroid therapy to influence intracranial pressure in patients with severe head injury. *Journal of Neurosurgery.* 1979; **51**: 301-306.
- **Guide to the Care and Use of Experimental Animals.** Canadian Council on Animal Care. Ottawa, Ontario, Canada. 1993.
- **Hall E.D.** High-dose glucorticoid treatment improves neurological recovery in head-injury mice. *Journal of Neurosurgery.* 1985; **62**: 882-887.
- **Hall E.D., Braugher J.M.** Central nervous system trauma and stroke. Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. *Free Radical Biology & Medicine.* 1989; **6**: 303-313.
- **Harris E.D. Jr., Krane S.M.** Collagenases. *The New England Journal of Medicine.* 1974; **291**: 652-661.
- **Holmin S., Mathiesen T.** Biphasic edema development after experimental brain contusion in rat. *Neuroscience Letters.* 1995; **194**: 97-100.
- **Holmin S., Mathiesen T.** Dexamethasone and colchicine reduce inflammation and delayed oedema following experimental brain contusion. *Acta Neurochirurgica.* 1996; **138**: 418-424.

- **Holmin S., Mathiesen T., Shetye J., Biberfeld P.** Intracerebral inflammatory response to experimental brain contusion. *Acta Neurochirurgica*. 1995; **132**: 110-119.
- **Hopkins A.L.** Head trauma. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 1996; **26**: 875-891.
- **Ildan F., Polat S., Oner A., Isbir T., Cetinalp E., Kaya M., Karadayi A.** The effect of the treatment of high-dose methylprednisolone on Na (+) - K (+) / Mg (+2) ATPase activity and lipid peroxidation and ultrastructural findings following cerebral contusion in rat. *Surgical neurology*. 1995; **44**: 573-580.
- **Irwin, S.** Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacology*. 1968; **13**: 222-257.
- **Isacson O., Fischer W., Wictorin K, Dawbarn D., Björklund A.** Astroglial response in the excitotoxically lesioned neostriatum and its projection areas in the rat. *Neuroscience*. 1987; **20**: 1043-1056.
- **Janoff A., Zeligs J.D.** Vascular injury and lysis of basement membrane in vitro by neutral protease of human leukocytes. *Science*. 1968; **161**: 702-704.
- **Jenkins A., Maxwell W.L., Graham D.I.** Experimental intracerebral haematoma in the rat: Sequential light microscopical changes. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 1989; **15**: 477-486.

- **Jones T.C., Hunt R.D., King N.W.** Disturbances of circulation. In: Veterinary pathology. 6th ed. Williams & Wilkins. Baltimore, Philadelphia. 1997; 168-169.
- **Kase C.S, Caplan L.R.** Intracerebral hemorrhage. Boston, Mass: Butterworth-Heinemann.1994.
- **Kase CS.** Intracerebral hemorrhage: non-hypertensive causes. *Stroke*. 1986; **17**: 590-595.
- **Kefalides N.A.** Comparative biochemistry of mammalian basement membranes. In: Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix. Vol 1, Academic Press, New York, 1970; 535.
- **Kefalides N.A.** Isolation of a collagen from basement membranes containing three identical-chains. *Biochemical and biophysical research communications*. 1971; **45**: 226-234.
- **Kefalides N.A.** Structure and biosynthesis of basement membranes. *International review of connective tissue research*. 1973; **6**: 63-104.
- **Klatzo I.** Pathophysiological aspect of brain edema. *Acta Neuropathologica*. 1987; **72**: 236-239.
- **Kochanek P.M., Hallenbeck J.M.** Polymorphonuclear leukocytes and monocytes/macrophages in the pathogenesis of cerebral ischemia and stroke. *Stroke*. 1992; **23**: 1367-1379.

- **Koestner A., Jones T.C.** The nervous system. In: Veterinary pathology. 6th ed. Williams & Wilkins. Baltimore, Philadelphia. 1997; 1259-1281.
- **Kofman S., Garvin J.S., Nagamani D., et al.** Treatment of cerebral metastases from breast cancer with prednisone. *The Journal of the American Medical Association*. 1957; **163**: 1473-1476.
- **Krause J.F., McArthur D.L., Silverman T.A., Jayaraman M.** Epidemiology of brain injury. In: Neurotrauma. Narayan R.K., Wilberg J.E., Povlishock J.T. ed. McGraw-Hill, New York, NY. 1996; 13-30.
- **Landis D.M., Weinstein L.A., Skordeles C.J.** Effects of dexamethasone on the differentiation of membrane structure in cultured astrocytes. *Glia*. 1991; **4**: 335-344.
- **Lazorthes G.** Surgery of cerebral hemorrhage; report on the results of 52 surgically treated cases. *Journal of Neurosurgery*. 1959; **16**: 355-364.
- **Leyden P., Shin C., Jackson-Friedman C., Hassid S., Chong A.** Effect of ganaxolone in a rodent model of cerebral hematoma. *Stroke*. 2000; **31**: 169-175.
- **Liddle G.W.** Clinical pharmacology of the anti-inflammatory steroids. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1961; **2**: 615-635.
- **Lisk C.S., Pasteur W., Rhoades H., Putman R.D., Grotta J.C.** Early presentation of hemispheric intracerebral hemorrhage: prediction of outcome and guidelines for treatment allocation. *Neurology*. 1994; **44**: 133-139.

- **Lo Y-K., Yiu C-H., Hu H-H., Su M-S., Laeuchli S-C.** Frequency and characteristics of early seizures in Chinese acute stroke. *Acta Neurologica Scandinavica*. 1994; **90**: 83-85.
- **Long D.M., Hartmann J.F., French L.A.** The response of experimental cerebral edema to glucocorticoid administration. *Journal of Neurosurgery*. 1966; **24**: 843-854.
- **Luessenhop A.J., Shevlin W.A., Ferrero A.A., McCullough D.C., Barone B.M.** Surgical management of primary intracerebral hemorrhage. *Journal of Neurosurgery*. 1967; **27**: 419-427.
- **Luthert P.J., Greenwood J.** Experimental Studies and the Blood-Brain Barrier. In: Steroids in Diseases of the Central Nervous System. Edited by Rudy Capildeo. John Wiley & Sons. Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore. 1989; 47-57.
- **Macpherson P., Teasdale E., Dhaker S., Allerdycce G., Galbraith S.J.** The significance of traumatic haematoma in the region of the basal ganglia. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 1986; **49**: 29-34.
- **Martin J.H.** Neuroanatomy, Text and Atlas. Elsevier. New York. 1989; 268-289.
- **Matsuo Y., Onodera H., Shiga Y., Nakamura M., Ninomiya M., Kihara T., Kogure K.** Correalation between myeloperoxidase-quantified neutrophil accumulation and ischemic brain injury in the rat. Effects of neutrophil depletion. *Stroke*. 1994; **7**: 1469-1475.

- **Matsuo Y., Onodera H., Shiga Y., Shozuhara H., Ninomiya M., Kihara T., Timatani T., Miyasaka M., Kogure K.** Role of cell adhesion molecules in brain injury after transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *Brain Research*. 1994; **656**: 344-352.

- **Mayo N.E., Neville D., Kirkland S. Ostbye T., Mustard C.A., Reeder B., Joffres M., Brauer G., Levy A.R.** Hospitalization and case fatality rates for stroke in Canada from 1982 through 1991: the Canadian collaborative study group of stroke hospitalizations. *Stroke*. 1996; **27**: 1215-1220.

- **McDonald R.K., Langston V.C.** Corticoterapia y agentes antiinflamatorios no esteroides. In: Pocket Companion to: Cuarta Edición del Tratado de Medicina Interna Veterinaria. Ettinger S.J. Editores-compiladores Ettinger S.J., Feldman D.G., Lunney Brayley, J. Brayley K.A. Editorial Inter-Médica. Buenos Aires. 1998; 164-170.

- **McKissock W.** Some aspects of subarachnoid haemorrhage; a symposium. I. Clinical and surgical aspects of ruptured intracranial aneurysms. *The British journal of radiology*. 1959; **32**: 79-83.

- **McLeod J.D., Bolton C.** Dexamethasone induces an increase in intracellular and membrane-associated lipocortin-1 (annexin-1) in rat astrocyte primary cultures. *Cellular and molecular neurobiology*. 1995; **15**: 193-205.

- **Meining G., Deisenroth K.** Dose-reponse relation for dexamethasone in cold lesion-induced brain edema in rats. *Advances in Neurology*. 1990; **52**: 295-300.

- **Montfort I, Pérez-Tamayo R.** The distribution of collagenase in normal rat tissues. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1975; **23**: 910-920.

- **Montgomery D.L.** Astrocytes: form, functions, and roles in disease. *Veterinary Pathology*. 1994; **31**: 145-67.
- **Neer, T.M.** Sistema Nervioso In: Geriatria y gerontología del perro y el gato. Ed. Goldston R. T. et Hoskins J. D. Primera edición. Inter-Médica, Buenos Aires. 1997; 379-404.
- **Oliver J.E. Jr.** Daño intracraneal. In: Terapéutica veterinaria. Práctica clínica en pequeñas especies. Tomo II. Editado por R. Kirk. Compañía Editorial Continental. México. 1985; 807-812.
- **Oliver, J.E., Lorenz M.D.** Neurological examination. In: Handbook of veterinary neurologic diagnosis, W.B. Saunders, Philadelphia, USA. 1993; 26-29.
- **Oliver, J.E., Lorenz M.D., Kornegay J.N.** Handbook of Veterinary Neurology. W.B. Saunders, Philadelphia, USA. 1997; 297.
- **Paxinos G.T., Watson C.** The rat brain in stereotaxic coordinates, 4^o ed. San Diego Academic Press Inc. San Diego, USA. 1998.
- **Platt S.R., Garosi L.** Canine cerebrovascular disease: do dogs have strokes? *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2003; **39**: 337-342.
- **Poungvarin N., Bhoopat W., Viriyavejakul A., Rodprasert P., Buranasiri P., Sukondhabhant S., Hensley M.J., Strom B.L.** Effects of dexamethasone in primary supratentorial intracerebral hemorrhage. *New England Journal of Medicine*. 1987; **14**; 316: 1229-1233.

- **Proulx J., Dhupa N.** Severe brain injury: Part II. Therapy. *Compendium on Continuing Education for the practicing veterinarian*. 1998; **20**: 897-905.
- **Richard D., Orsal D.** Neurophysiologie, organisation et fonctionnement du système nerveux. 2^{ème} édition. Dunod. Paris. 2001; 379-385.
- **Robert A.M., Godeau G.** Action of proteolytic and glycolytic enzymes on the permeability of the blood-brain barrier. *Biomedicine*. 1974; **20-21**: 36-39.
- **Robert L.** Les glycoprotéines tissulaires, Presse méd., 1971; 79: 2777.
- **Roldan A., Gogg S., Ferrini M., Schillaci R., De Nicola A.F.** Glucocorticoid regulation of in vitro astrocyte phagocytosis. *Biocell*. 1997; **21**: 83-9.
- **Rondeau D.B., Jolicoeur F.B, Belanger F. et al.** Differential behavioral activities from anterior and posterior hypothalamic lesions in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1998; **9**: 43-47.
- **Rosenberg G.A., Estrada E., Kelley R.O., Kornfeld M.** Bacterial collagenase disrupts extracellular matrix and opens blood-brain barrier in rat. *Neuroscience Letters*. 1993; **160**: 117-119.
- **Rosenberg G.A., Mun-Bryce S., Wesley M., Kornfeld M.** Collagenase-induced cerebral hemorrhage in rats. *Stroke*. 1990; **21**: 801-807.
- **Sadrzadeh S.M., Anderson D.K., Panter S.S., Hallaway P.E., Eaton J.W.** Hemoglobin potentiates central nervous system damage. *Journal of Clinical Investigation*. 1987; **79**: 662-664.

- **Scott D.W.** Terapia sistémica de glucocorticoides. In: *Terapéutica veterinaria. Práctica clínica en pequeñas especies. Tomo II.* Editado por R. Kirk. Compañía Editorial Continental. México. 1985; 970-976.
- **Sekiya S., Yamashita T., Sendo F.** Suppression of late phase enhanced vascular permeability in rats by selective depletion of neutrophils with a monoclonal antibody. *Journal of leukocyte biology.* 1990; **48**: 258-265.
- **Shell L.** Estados alterados de la conciencia: coma y estupor. In: *Pocket Companion to Cuarta Edición del Tratado de Medicina Interna Veterinaria.* Ettinger S.J. Editores compiladores Ettinger S.J., Feldman D.G., Lunney Brayley, J. Brayley K.A. Editorial Inter-Medica. Buenos Aires. 1998; 86-87.
- **Shiga Y., Onodera H., Kogure K., Yamasaki Y., Yashima Y., Syozuhara H., Sendo F.** Neutrophil as a mediator of ischemic edema formation in the brain. *Neuroscience Letters.* 1991; **125**: 110-112.
- **Shores A., Cooper T.G., Gartrell C.L. et al.** Clinical characteristics of cerebrovascular disease in small animals. In: *Proceedings, 9th American College of Veterinary Internal Medicine Forum.* 1991; 777-778.
- **Slivka A.P., Murphy E.J.** High-dose methylprednisolone treatment in experimental focal cerebral ischemia. *Experimental Neurology.* 2001; **167**: 166-172.
- **Storts R.W., Montgomery D.L.** The Nervous System. In: *Thomson's Special Veterinary Pathology.* Carlton W.W, McGavin M.D. Ed. Mosby-year book, 2001; 381-459.

- **Summers B.A., Cummings J.F., de Lahunta A.** Veterinary Neuropathology. Mosby-year book. St Louis, MO. 1995; 15.
- **Thomas W.B.** Cerebrovascular disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 1996; **26**: 925-943.
- **Timpl R., Dziadek M.** Structure, development, and molecular pathology of basement membranes. *International review of experimental pathology*. 1986; **29**: 1-112.
- **Toole J.F., Burrow D.D.** Pathophysiology and clinical evaluation of ischemic vascular disease. In: Youmans J.R. ed. Neurological surgery. Philadelphia. W.B. Saunders. 1990; 1463-1515.
- **Vachon, P., Moreau J.P.** Low doses of dexamethasone decrease brain water content of collagenase-induced cerebral hematoma. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 2003; **68**: 157-159.
- **Vachon, P., Ste-Marie L., Montgomery J.** Utilisation de tests comportementaux pour prédire l'étendue de l'ischémie cérébrale induite par la cautérisation de l'artère cérébrale moyenne. *Science Tech Animal Laboratory*. 1999; **24**: 171-177.
- **Victor M., Adams R.D., Ropper A.H.** Adams and Victor's principles of neurology. 7th ed. Victor M. New York. Medical Pub., McGraw-Hill Division, c2001; 821-824.
- **Vracko R.** Basal lamina scaffold-anatomy and significance for maintenance of orderly tissue structure. *American Journal of Pathology*. 1974; **77**: 314-346.

- **Wedmore C.V., Williams T.J.** Control of vascular permeability by polymorphonuclear leukocytes in inflammation. *Nature*. 1981; **289**: 646-650.
- **Weiss S.J.** Tissue destruction by neutrophils. *The New England Journal of Medicine*. 1989; **320**: 365-376.
- **Xi G., Hua Y., Bhasin R.R., Ennis S.R., Keep R.F., Hoff J.T.** Mechanisms of edema formation after intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 2001; **32**: 2932.
- **Xi G., Wagner K.R., Keep R.F., Hua Y., Courten-Myers, Broderick J.P., Brott T.G., Hoff J.T.** Role of blood clot formation on early edema development after experimental intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 1998; **29**: 2580-2585.
- **Xue M., Del Bigio M.R.** Intracortical hemorrhage injury in rats. Relationship between blood fractions and brain cell death. *Stroke*. 2000; **31**: 1721.
- **Zhang Y., Croft K.D., Mori T.A., Schyvens C.G., McKenzie K.U., Whitworth J.A.** The antioxidant tempol prevents and partially reverses dexamethasone-induced hypertension in the rat. *American journal of hypertension*. 2004; **17**: 260-265.

ACCORD ET PERMISSION DES COAUTEURS D'UN ARTICLE¹

IDENTIFICATION DE L'ÉTUDIANT

Nom de l'étudiant		Code permanent
Pablo Lema		
Sigle du programme	Titre du programme	Option
M.Sc.	Sciences vétérinaires	Biomédecine

DESCRIPTION DE L'ARTICLE

Auteurs	
Pablo P. Lema, Christiane Girard, Pascal Vachon	
Titre	
Evaluation of methylprednisolone for the treatment of intracerebral hemorrhage using an experimental model in the rat	
Revue	Date de publication
Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics	

DÉCLARATION DES COAUTEURS

Déclaration		
À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, j'autorise le microfilmage du mémoire et je suis d'accord que Pablo Lema inclut cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre ÉVALUATION DES ANTI-INFLAMMATOIRES STÉROÏDIENNES POUR LE TRAITEMENT DE L'HÉMORRAGIE INTRA-CÉRÉBRALE: MODÈLE D'INJECTION STÉRÉOTAXIQUE DE COLLAGÉNASE CHEZ LE RAT		
Coeuteur		Date
Christiane Girard		27/07/04
Coeuteur		Date
Pascal Vachon		27/07/04
Coeuteur	Signature	Date
Coeuteur	Signature	Date
Coeuteur	Signature	Date
Coeuteur	Signature	Date
Coeuteur	Signature	Date

Envoyé à la FÉS le

¹Annexe II du Guide de présentation et d'évaluation des mémoires de maîtrise et des thèses de doctorat, mars 2001

ACCORD ET PERMISSION DES COAUTEURS D'UN ARTICLE¹

IDENTIFICATION DE L'ÉTUDIANT

Nom de l'étudiant Pablo Lema		Code permanent [REDACTED]
Sigle du programme M.Sc.	Titre du programme Sciences vétérinaires	Option Biomédecine

DESCRIPTION DE L'ARTICLE

Auteurs Pablo P. Lema, Christiane Girard, Pascal Vachon	
Titre Evaluation of dexamethasone for the treatment of intracerebral hemorrhage using a collagenase-induced intracerebral hematoma model in rats	
Revue Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics	Date de publication

DÉCLARATION DES COAUTEURS

Déclaration <i>À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, j'autorise le microfilmage du mémoire et je suis d'accord que Pablo Lema inclut cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre ÉVALUATION DES ANTI-INFLAMMATOIRES STÉROÏDIENS POUR LE TRAITEMENT DE L'HÉMORRAGIE INTRA-CÉRÉBRALE: MODÈLE D'INJECTION STÉRÉOTAXIQUE DE COLLAGÉNASE CHEZ LE RAT</i>		
Coeuteur Christiane Girard	[REDACTED]	Date 27/07/04
Coeuteur Pascal Vachon		Date 27/07/04
Coeuteur		Date
Coeuteur	Signature	Date
Coeuteur	Signature	Date
Coeuteur	Signature	Date
Coeuteur	Signature	Date
Coeuteur	Signature	Date

Envoyé à la FÉS le

JUL -20' 04 (TUE) 08:50 COPIE RESOLUTIONS

TEL:5144877801

P.005

PERMISSION DE L'ÉDITEUR D'UNE REVUE OU D'UN LIVRE¹**IDENTIFICATION DE L'ÉTUDIANT**

Nom de l'étudiant Pablo Lema		Codage de l'étudiant [REDACTED]
Sigle du programme M.Sc.	Titre du programme Sciences vétérinaires	Option Biomédecine

DESCRIPTION DE L'ARTICLE

Auteurs Pablo P. Lema, Christiane Girard, Pascal Vachon		
Titre Evaluation of dexamethasone for the treatment of intracerebral hemorrhage using a collagenase-induced intracerebral hematomas model in rats		
Numéro de la revue	Pages	Date

IDENTIFICATION DE LA REVUE OU DU LIVRE

Nom complet de la revue Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics	
Adresse	Date

DÉCLARATION DE L'ÉDITEUR

Nom complet de l'éditeur	
Déclaration A titre d'éditeur, j'autorise le microfilmage du mémoire et je suis d'accord que Pablo Lema insère cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre ÉVALUATION DES ANTI-INFLAMMATOIRES STÉROIDIENNES POUR LE TRAITEMENT DE L'HÉMORRAGIE INTRACÉRÉALE: MODÈLE D'INJECTION STÉRÉOCHIMIQUE CHEZ LE RAT.	
Editeur Jim E. Riviere	Date 7/22/04

D'après le [REDACTED]

¹Annexe II de l'Ordre de présentation et l'évaluation des étudiants de maîtrise et des classes de doctorat, mars 2001

